

DAS WACHSTUMSVERHALTEN DER GERMINATIVEN ZONE DES GROSSHIRNS
NACH PRÄNATALER RÖNTGENBESTRAHLUNG UND
POSTNATALER OPIOIDREZEPTORBLOCKADE BEI DER RATTE

Ursula Miaskowski

Disbui. München

1989





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Institut für Pathologie der Gesellschaft für
Strahlen- und Umweltforschung mbH München
Direktor Prof.Dr. W. Gössner
Arbeitsgruppe "Embryologie und Teratologie"
Leiter: Dr.med.vet.habil. W. Schmahl

Vorgelegt über den
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie
der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Vorstand: Prof.Dr. E. Dahme

**DAS WACHSTUMSVERHALTEN DER GERMINATIVEN ZONE DES GROSSHIRNS
NACH PRÄNATALER RÖNTGENBESTRAHLUNG UND
POSTNATALER OPIOIDREZEPTORBLOCKADE BEI DER RATTE**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Ursula Miaskowski
aus
Lengede

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse
Referent: Univ.-Prof. Dr. E. Dahme
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. R. Schulz

Tag der Promotion: 24. Februar 1989

INHALTSVERZEICHNIS

1. THEMASTELLUNG

2. THEMASTELLUNG

2.1. Bedeutung der Thematik der Veranstaltung

2.2. Bedeutung

2.3. Erste Darstellung der Thematik der Veranstaltung
Für meinen Vater

2.4. Erste Darstellung der Thematik der Veranstaltung

2.5. Zweite Darstellung der Thematik der Veranstaltung
in der Zeit der 1930er

2.6. Zusammenfassung der Thematik der Veranstaltung
Zusammenfassung der Thematik der Veranstaltung in der Zeit der 1930er
Zusammenfassung der Thematik der Veranstaltung in der Zeit der 1930er
Zusammenfassung der Thematik der Veranstaltung in der Zeit der 1930er

3. THEMASTELLUNG

3.1. Bedeutung

3.2. Bedeutung

3.3. Bedeutung

3.4. Bedeutung

3.5. Bedeutung

3.6. Bedeutung

3.7. Bedeutung der Thematik der Veranstaltung
Bedeutung der Thematik der Veranstaltung

3.8. Bedeutung der Thematik der Veranstaltung

3.9. Bedeutung der Thematik der Veranstaltung
Bedeutung der Thematik der Veranstaltung

3.10. Bedeutung der Thematik der Veranstaltung
Bedeutung der Thematik der Veranstaltung

3.11. Bedeutung der Thematik der Veranstaltung

INHALTSVERZEICHNIS

1. PROBLEMSTELLUNG	1
2. EINLEITUNG	2
2.1. Neurulation und Ausbildung der Gehirnanlage	2
2.2. Histogenese	2
2.3. Durch Röntgenstrahlen bedingte Entwicklungsstörungen	4
2.4. Akute Effekte der Röntgenstrahlen	6
2.5. Postnatale Entwicklung der Opioid-Rezeptoren im Gehirn der Ratte	8
2.6. Neuropharmakologische Beeinflußbarkeit der Opioidrezeptorenentwicklung im Gehirn von Nagetieren (Ratte und Maus) durch Opiate, Opioide und deren Antagonisten	13
3. MATERIAL UND METHODEN	19
3.1. Versuchstiere	19
3.1.1. Haltung	19
3.1.2. Paarung	19
3.1.3. Versuchstiergruppen	19
3.2. Röntgenbestrahlung	20
3.3. Naltrexonebehandlung	20
3.4. Anfertigung der Autoradiographien und der histologischen Präparate	21
3.4.1. Applikation von 3-H-Thymidin	21
3.4.2. Präparation und Herstellung der histologischen Schnitte	21
3.4.3. Entwicklung und Fixierung der Autoradiographien	21
3.4.4. Auswertung und Beurteilung der Präparate	22

3.5.	Darstellung der Ergebnisse	22
4.	ERGEBNISSE	23
4.1.	Zusammenfassung der Körpergewichts- und Organ- gewichtsentwicklung bei den 4 Versuchsgruppen	24
4.2.	Kontrolltiere	24
4.2.1.	Histologische Befunde	24
4.2.2.	Mitoserate in der telencephalen SEZ	25
4.2.3.	Markierungshäufigkeit in der telencephalen SEZ	25
4.3.	Mit Naltrexone behandelte Kontrolltiere	25
4.3.1.	Histopathologische Befunde	25
4.3.2.	Mitoserate in der telencephalen SEZ	26
4.3.3.	Markierungshäufigkeit in der telencephalen SEZ	26
4.4.	Röntgenbestrahlung am 14. Gestationstag	26
4.4.1.	Histopathologische Befunde	26
4.4.2.	Mitoserate in der telencephalen SEZ	28
4.4.3.	Markierungshäufigkeit in der telencephalen SEZ	29
4.5.	Pränatale Röntgenbestrahlung und postnatale Naltrexonebehandlung	29
4.5.1.	Histopathologische Befunde	29
4.5.2.	Mitoserate in der telencephalen SEZ	31
4.5.3.	Markierungshäufigkeit in der telencephalen SEZ	31
4.6.	Weitere Späteffekte	32
4.7.	Anhang: Tabellen, graphische Darstellungen und Abbildungen	34
4.7.1.	Tabellen	34
4.7.2.	Graphische Darstellungen	41
4.7.3.	Abbildungen	44

5. DISKUSSION	53
5.1. Durch Naltrexone (NX) bewirkte Wachstums- steigerung des Gehirns	53
5.1.1. Entwicklung der adrenergen Innervierung des Großhirns	55
5.1.2. Entwicklung der adrenergen Rezeptoren auf den Gliazellen und ihre Reaktion auf Sti- mulierung	56
5.1.3. Beziehung zwischen noradrenerger Innervie- rung und dem Opioid-System	57
5.2. Veränderungen der telencephalen SEZ nach Röntgenbestrahlung	60
5.3. Tumorpromovierender Effekt von Naltrexone nach pränataler Röntgenbestrahlung	63
6. ZUSAMMENFASSUNG	67
7. SUMMARY	69
8. LITERATURVERZEICHNIS	71

1. PROBLEMSTELLUNG

Aus zahlreichen morphologischen Untersuchungen, insbesondere am Großhirn von Nagetieren, ist der Verlauf der am fetalen zentralen Nervensystem ablaufenden Veränderungen nach pränataler Strahlenexposition hinreichend bekannt. Auf eine Phase raschen Zellumsatzes, der weitgehend reparative Tendenz und nur zum geringen Teil auch regenerative Potenz besitzt, folgt ungefähr zum Geburtszeitpunkt ein drastischer Rückgang der Proliferationskapazität des den Strahleninsult überdauernden germinativen Neuroepithels. Der Status der teratologischen Befunde steht so mit dem Geburtszeitpunkt fest. Jüngste Berichte aus dem Schrifttum sowie neuropathologische Untersuchungen am Institut für Pathologie der GSF München geben jedoch Hinweise auf die Rolle körpereigener Peptide bei der Steuerung der perinatalen Wachstumsvorgänge. Dabei konzentrieren sich laufende Untersuchungen auf den Einfluß von Opioiden auf die Gehirnentwicklung, wobei gezeigt werden konnte, daß eine langandauernde Blockade der den β -Endorphin komplementären μ -Rezeptoren während der Neonatalperiode zu einer beträchtlichen Wachstumssteigerung von Groß- und Kleinhirn führt. Die vorliegende Untersuchung soll daher die morphologischen Auswirkungen einer solchen chronischen μ -Rezeptorenblockade mittels täglicher Applikation von Naltrexone auf die Entwicklung der typischen Strahlenläsionen im Großhirn aufzeigen. Im Mittelpunkt steht dabei die Frage, ob eine postnatale Modifikation solcher Läsionen durch Opiode bzw. durch Opioidantagonisten möglich ist, und in wie weit solche Erkenntnisse auch auf andere Probleme der Neuroteratologie übertragbar sind.



2. EINLEITUNG

2.1. Neurulation und Ausbildung der Gehirnanlage

Die Neuralplatte der Ratte bildet sich zwischen dem 8. und 9.Tag post conceptionem (p.c.) (12). Einen Tag später kommt es zur Bildung der Neuralrinne (30), die sich dann vom 10.-11.d.p.c. einsenkt. Die beiden Neuralfalten, die sich aufeinander zuentwickeln, verschmelzen am 11.d.p.c. zuerst in der Halsregion. Der Verschmelzungsvorgang schreitet dann in cranialer Richtung auf das Rhombencephalon (32) zu. Zur gleichen Zeit, aber unabhängig voneinander, schließt sich das Neuralrohr im Bereich des späteren Prosencephalon. Dieser Prozeß dehnt sich cranial bis zum Neuroporus anterior, der vordersten Öffnung des Neuralrohres, und caudal über den mesencephalen Abschnitt bis zum Rhombencephalon aus. Während des 11. und 12. Gestationstages bildet sich die endgültige 5-blasige Ausgestaltung des Gehirns. Das Neuralrohr lumen bleibt als Ventrikelsystem erhalten. (Rhombencephalon - 4. Ventrikel, Diencephalon - 3. Ventrikel, Telencephalon - 1. und 2. Seitenventrikel) (12).

2.2. Histogenese

Die Wand des Neuralrohres besteht bis zum 13.d.p.c. nur aus ventrikulären Zellen. Dies sind längliche, bipolar gestreckt vorliegende, undifferenzierte Neuroepithelien, welche sich in Form eines wenige Lagen starken Pseudoepithels aneinanderfügen. Dies ist die Ventrikuläre Zone (VZ). Sie gelten als Vorläufer sämtlicher Neuronen und der Makroglia des ZNS und haben desmosomalen Kontakt mit den Fortsätzen ihrer Nachbarzellen. Ein apikaler Ausläufer reicht bis zur pialen Basalmembran, wo er mit einem Endfüßchen verankert ist. Nach Raedler et al. (90) dient der Ausläufer als Leitschiene für die auswandernden Präneuronen, während Shoukimas et al. (104) bei der

auswandernden Tochterzelle, solange sie sich noch in der VZ befindet, zahlreiche Aussprossungen beobachtet hat, die dem Neuron später als Leitschiene dienen. Die postmitotisch auswandernden Tochterzellen bilden in der Peripherie ein zellreiches Gebiet, die sogenannte primordiale plexiforme Zone (89,57). Diese Zone verdreifacht sich in der Dicke zwischen dem 13. und 15.d.p.c. und beträgt am Ende der Organogenese (15.d.p.c.) 40% der Dicke der Hemisphärenwand (90). Am folgenden Tag beginnt die Bildung der Cortikalplatte an den lateralen Abschnitten der Hemisphärenwand durch Translozierung der postmitotischen Tochterzellen der VZ. Deren Differenzierung setzt zuerst ventrikelwärts (innen) ein und schreitet dann nach außen fort. Die bereits bestehende Cortikalplatte wird durch sie hindurchgehende, schubweise Wanderungen von Präneuronen aus der VZ vergrößert. Autoradiographische Untersuchungen von Berry und Rogers (14) zeigen, daß die Neuronen, in der zeitlichen Reihenfolge ihrer Entstehung, von innen nach außen angelagert werden. Damit beginnt die Laminierung der Hemisphärenwand. Die ursprünglich plexiforme Zone wird in zwei Bereiche unterteilt, wobei sich die obere (periphere) Schicht zur späteren Lamina 1 und die untere Lage zur späteren Lamina 6 entwickelt. Dazwischen bilden sich die Laminae 2-4 aus. Die Reifung der Präneuronen erfolgt in der Reihenfolge der ontogenetischen Entstehung. So entwickeln sich zuerst die Neuronen der Laminae 1 und 4 (15). Sehr stark elongierte, radiale Gliazellen, die mit ihren Fortsätzen von einer Wand des Neuralrohres zur anderen reichen und somit die gesamte Cortexdicke durchsetzen, dienen den embryonalen Nervenzellen als Leitstrukturen, um an ihren entgültigen Bestimmungsort zu gelangen (86,91).

Ab dem 17.d.p.c. kann in den lateralen Bereichen die Subventrikuläre Zone (SVZ) von der VZ abgegrenzt werden. Da die Corticogenese immer einen deutlichen räumlichen Gradienten aufweist, der sich von anterolateral nach posteromedial erstreckt, beginnt die Entwicklung der SVZ

in den medialen Bereichen erst am 19.d.p.C.

Aus der SVZ gehen Neurone und Makrogliazellen (Astrozyten und Oligodendrozyten) hervor. Zwischen deren Entwicklung besteht ein enger zeitlicher Zusammenhang (22). Es ist aber noch nicht vollständig geklärt, welche Zelllinien zur Ausbildung von Astrozyten und Oligodendrozyten führen, und welches ihr prozentualer Anteil an der gesamten Gliapopulation ist. Makrogliaoblasten werden im geringen Umfang während des gesamten Lebens von der SVZ gebildet und können bei Gehirntraumata proliferieren.

Im Gegensatz zu Smart et al. und Knorr et al. (108,61), wo die Proliferation von Neuroblasten perinatal drastisch abnimmt und in der 3. postnatalen Woche endet, konnten Kaplan et al. (52) auch ein Wachstum von Neuronen im Hippocampus adulter Ratten nachweisen.

Parallel zur Ausbildung der SVZ verschmälert sich die VZ, bis sie postnatal nur noch als einschichtige Auskleidung der Ventrikel vorhanden ist und keine mitotische Aktivität mehr zeigt (22,17).

2.3. Durch Röntgenstrahlen bedingte Entwicklungsstörungen

Röntgenstrahlen sind eine genau dosierbare, physikalische Noxe. Sie wirken unmittelbar auf das bestrahlte Gewebe und schädigen dieses abhängig von der Dosis und vom Zyklusstand der Zellen. Der Zellzyklus, eingeteilt in die Zwischenstufen (G1,G2), die DNA-Synthese (S) und die Mitose (M), reagiert besonders empfindlich auf Störungen in der Übergangsphase von G1 zu S (17,119) und G2 zu M (216). Es kann dort schon bei einer geringen Strahlendosis zu Einzel- und Doppelstrangbrüchen der DNS kommen, doch die zelleigene Reparaturkapazität kann die Schaden der Einzelstrangbrüche meist auffangen. Auch die Phosphatesterbrücken, die Pyrimidinnukleotide und die Fluiditätsveränderungen an der Kernmembran sind sehr strahlensensibel und führen leicht zum Tod der Zelle.

Am Ende der S-Phase, zum Übergang in die G2-Phase, ist die DNA-Syntese abgeschlossen, und es herrscht größte Strahlenresistenz. Die Zelle reagiert hier auf eine Noxe nur mit einer Teilungsverzögerung. In der Mitte der G2-Phase gibt es einen Arretierungspunkt, hinter dem die Zelle sich auf die Mitose "vorbereitet". Nach diesem Punkt nimmt die Strahlensensibilität wieder zu, und erreicht ihren erneuten Höhepunkt in der M-Phase. Danach wird die Zelle wieder strahlenresistenter (216,35).

Zellen, für die die Strahlendosis letal ist, können noch einige Proliferationszyklen durchlaufen, ehe sie endgültig absterben. Diese anschließenden Zyklen sind uneinheitlich und meist verlängert, und der verzögerte Zelltod tritt vornehmlich bei den Zellen auf, die sich beim Strahleninsult in der Mitose befunden haben (44,41).

Werden die Zellen der frühen G1-Phase bestrahlt, so kommt es nur zu einer geringgradigen Verzögerung der Phasendauer (121), während die Zellen der späten G1-Phase beschleunigt in die S-Phase übertreten. Die stärkste Teilungsverzögerung erfährt allerdings die S-Phase (119). Hierfür sind zwei Mechanismen verantwortlich :

- 1.) Durch eine Verzögerung im Ablauf der S-Phase (S-Delay

Diese dosisabhängige Verlängerung von 2 - 6 Std. betrifft die Vollendung der DNS-Synthese und ist dann am ausgeprägtesten, wenn die geringste Strahlenletalität vorliegt (126).

- 2.) Durch eine Blockierung des Übergangs von der S zur G2-Phase

Wenn der S/G2-Block jedoch aufgehoben ist, beginnt ein exponentielles Wachstum, wobei ein oder mehrere Mitosezyklen durchlaufen werden, bevor es zu einem späten Tod der bestrahlten Zelle in einer G1-Phase, oder am Übergang von G1- zur S-Phase kommt (127).

Wird während der G2-Phase bestrahlt, so führt das zu einer Verzögerung der Zyklusprogression (G2-Delay) (83)

von ca. 1 Std. pro 1 Gy Strahlendosis, und ist damit in etwa gleich der M- und S-Phasenverzögerung. Nach der Erholung des M-Blockes erfolgt wie beim G2-Block eine exponentielle Mitoseaktivität, die aber im Tod der bestrahlten Zelle endet.

2.4. Akute Effekte der Röntgenstrahlen

Nach einer Bestrahlung des trächtigen Muttertieres mit einer Dosis von 1,3 bis 1,5 Gy zwischen dem 10. und 13. Gestationstag, kommt es zwischen 50 Min. (33) und 2 bis 4 Std. zu einer Abnahme der Mitosehäufigkeit in der Ventrikulären Zone des Prosencephalon (192). Der Mitoseindex besitzt in dieser Zeit einen Wert von ca. 5% und sinkt nach der Bestrahlung auf 1% ab (128). Erst nach 48 Std. erreicht er wieder Werte wie bei unbestrahlten Kontrolltieren. Die in der SEZ lokalisierten Mitosen scheinen nicht so häufig betroffen zu sein, was der 3-H-Thymidin Markierungsindex bestätigt (128).

Nach 3-5 Std. nach der Röntgenbestrahlung kommt es nur zur Ruptur der Membrana limitans interna, zu einer erhöhten Glykogenablagerung in den Meninxzellen und zu einer geringgradigen Vergrößerung der Gefäße (25). Gleichzeitig setzen bereits ab der 4. Stunde der Bestrahlung reparative Vorgänge mit starken phagozytotischen Prozessen ein (20).

Eine typische Strahlenläsion des ZNS zur Zeit der Organogenese ist die Bildung von Rosetten. Diese kugeligen Gebilde, die von sich schnell teilenden Zellen der ventrikulären Zone gebildet werden, werden von Wilson (131) als strahlendosisabhängige Tumoren beschrieben, die unterschiedlich schnell und lange wachsen und dann in eine statische Phase übergehen um schließlich zu atrophieren.

An den biochemischen Veränderungen der Zellen ist vor allem die DNS des Zellkerns betroffen. Als besonders strahlensensible Angriffspunkte werden vor allem die

Phosphatesterbrücken, die Pyrimidinnukleotide und die allgemeinen Fluiditätsveränderungen an der Kernmembran angesehen. Weiterhin hemmen bereits kleine Dosen ionisierender Strahlen den Einbau von Nukleotiden in die DNS während der S-Phase. Ebenso werden Einzel- und Doppelstrangbrüche beobachtet, wobei die Reparaturkapazität die Schäden der Einzelstrangbrüche meist auffangen kann. Beim short repair werden die fehlerhaften drei bis vier Nukleotidsequenzen herausgetrennt und durch spezifische DNS-Syntheseleistung wieder ersetzt (nachweisbar bei Strahlendosen über 10 Gy). Bei long repair - z. B. induziert UV-Licht indirekte Brüche - werden die geschädigten Nukleotidsequenzen (bis zu 100 Stück) enzymatisch abgebaut und mit Hilfe der DNS-Polymeraseligase wieder neu synthetisiert.

Trächtige Ratten, die am 14. Gestationstag mit 200 R bestrahlt werden, zeigen einen atrophischen Cortex mit unnatürlicher Schichtung (29). Die Schichten 2-4 sind schwach ausgebildet, und die Wanderung der Neurone entlang der Gliafasern zum Cortex scheint durch die Strahlung nicht behindert zu werden. Der Verlust des Neuropils wird durch normale Überschußproduktion wieder ausgeglichen (80), so daß die Dichte und die Anzahl der Cortikalsynapsen gleich bleibt, obwohl die Cortexdicke um die Hälfte verringert ist. Im Nuc. caudatus, der früher als der Cortex entwickelt ist, kommt es zusätzlich zu einer verminderten Dendritenverzweigung, als Konsequenz einer direkten Zerstörung, oder durch einen verminderten Anreiz des Neuropils zur Proliferation (80). Eine weitere typische Strahlenläsion sind große subcortikale Massen, die sich von ektopischen, germinalen Rosetten entwickeln (29). Diese Massen entwickeln sich während der ersten postnatalen Tage und bestehen meistens aus pyramidalen Neuronen mit einigen sternförmigen, bipolaren und polymorphen Neuronen. Die Wanderung entlang der Gliafasern zum Cortex ist gestört und so bleiben sie in der 1. Schicht liegen (101). Weiterhin kommt es zu einer Dilation der Ventrikel (200 R) (93),

zu einem fehlenden Corpus callosum (2Gy am 16.d.p.c.) (101) und zu einer Verminderung der Neuronenzahl mit kompensatorischer Zunahme des Neuropils. Die Anzahl der Neuronen ist positiv korreliert mit der Strahlendosis, die abhängig vom Alter ist, wobei der Anfang der Organogenese besonders empfindlich ist. Die Sensibilität nimmt zum Ende hin ab.

Postnatal findet man bei den in utero behandelten Tieren eine deutlich höhere Mortalitätsrate, die in einer unspezifischen, funktionellen Lebensschwäche ihren Ausdruck findet.

2.5. Postnatale Entwicklung der Opioidrezeptoren im Gehirn der Ratte

Ab dem 14. Gestationstag werden im ZNS die ersten endogenen Opiate nachgewiesen. Sie spielen offenbar eine große Rolle bei den verschiedenen Regulationsmechanismen. Ihnen wird auch ein starker Einfluß auf die Modulation des Wachstums, die Entwicklung des ZNS oder die Mutter-Kind-Beziehung und den Saugreflex zugeschrieben. Diese inneren Opiode haben verschiedene Rezeptortypen, μ , δ , κ , die sich zu unterschiedlicher Zeit und Dichte entwickeln (11,19,64,87,120,60). Kornblum (60), der dies zusammenstellt und vervollständigt, ermittelt die Quantität der Rezeptoren mit Hilfe der Autoradiographie, während die Differenzierung der einzelnen Subtypen mit der selektiven Radioligandenbindung vorgenommen wird.

Die Entwicklung der μ -, δ - und k-Rezeptoren in den einzelnen Gehirnabschnitten:

I. Telencephalon

I.1. Bulbus olfactorius

In der externen plexiformen Schicht, im akzessorischen Anteil und im Tuberculum des Bulbus olfactorius ist die μ -Rezeptorendichte zum Geburtszeitpunkt schon sehr hoch und nimmt dann deutlich zwischen dem 2. und 9. Lebenstag ab (53,111,122). Die ersten μ -Rezeptoren in der internen plexiformen Schicht des Bulbus entwickeln sich vom 5. Tag an relativ konstant, bis sie am 17. Tag ihre adulte Konzentration erreichen. Im Vergleich zu den anderen Rezeptorsubtypen überwiegen die μ -Rezeptoren in diesem Gebiet deutlich.

Die δ -Rezeptoren entwickeln sich langsam zwischen 9. und 13. d.p.n., während die seit der Geburt vorhandene geringe Dichte der k-Rezeptoren konstant bleibt.

I.2. Kerngebiete

Die hohe Dichte der μ -Rezeptoren des Nucleus accumbens zum Geburtszeitpunkt vermindert sich zwischen dem 1. und 13. d.p.n. mit Ausnahme einiger ventraler Streifen. Der mediale Anteil des Nucleus accumbens jedoch steigert seine μ -Rezeptoren um das 4-fache (60).

Im Nucleus caudatus-Putamen ist bis zur Geburt eine sehr dichte und homogene Verteilung der μ -Rezeptoren zu beobachten, die nach der Geburt fleck- und streifenförmig wird. In letzteren Gebieten steigt die μ -Rezeptoren-Anzahl um das Doppelte an, während in der übrigen Matrix ein Abfall zu erkennen ist. Im vorderen Nucleus caudatus ist diese streifige Verteilung erst während der 3. p.n. Woche zu sehen.

Die κ -Rezeptoren bleiben konstant, und die δ -Rezeptoren steigen zwischen dem 9. und 13. Tag um das 3-fache an. Im Globus pallidus ist die μ -Rezeptoren-Dichte in der 1. Lebenswoche sehr hoch und verringert sich in der darauffolgenden Woche drastisch. In dieser 2. Woche erscheinen auch die κ -Rezeptoren in relativ hoher Dichte und sinken dann zwischen dem 12. und 17. Tag um die Hälfte ab. Der niedrige Level der δ -Rezeptoren nimmt weiter langsam ab.

I.3. Neocortex

In der ersten postnatalen Woche erscheinen die μ -Rezeptoren in der Lamina 1 und 6 (60,53) und werden in den mittleren Schichten (Lamina 3,4,5) nicht vor dem 9. Tag nachgewiesen. Ein deutlicher Anstieg der μ -Rezeptordichte findet in allen Schichten zwischen dem 13. und 17. d.p.n. statt.

Die ersten δ -Rezeptoren treten in der 1. Woche in Lamina 5 und 6 auf und werden am 9. d.p.n. auch in den oberflächlichen Schichten entdeckt. Wie bei den μ -Rezeptoren ist auch bei den δ -Rezeptoren eine starke Zunahme der Dichte ab dem 13. d.p.n. zu verzeichnen.

Die κ -Rezeptoren werden am 12. Tag erstmals beobachtet.

I.4. Amygdala

In der Amygdala sind die μ -Rezeptoren schon zum Geburtszeitpunkt in hoher Dichte vorhanden und steigen innerhalb der nächsten drei Wochen auf ihren adulten Wert an. Die anfangs geringe Menge der δ -Rezeptoren steigt im Laufe der nächsten Wochen kontinuierlich an. Die verstreuten κ -Rezeptoren erscheinen zwischen 5. und 17. d.p.n.

I.5. Hippocampus

Zum Zeitpunkt der Geburt sind im Hippocampus (122) eine geringe Anzahl von μ -Rezeptoren diffus verteilt, die sich bis zum Ende der ersten Woche zu einer zarten Verbindung zum Stratum pyramidale hin organisieren und ihre endgültige Dichte in der 2. Woche erreichen. Die k- und δ -Rezeptoren sind auch in dieser Lebenswoche noch kaum nachweisbar.

II. Diencephalon

II.1. Hypothalamus

Am 2. d.p.n. sind die μ -Rezeptoren im Hypothalamus in geringer Anzahl vorhanden (42), mit Ausnahme der dorsalen Bereiche, wo die Dichte der μ -Rezeptoren schon vor der Geburt sehr hoch ist. Es folgt darauf ein genereller Anstieg bis zu 2. Woche, der sich nach einem 14 Tage dauernden Abfall auf seine endgültige Dichte einpendelt. Die k-Rezeptoren erscheinen zuerst am 6. d.p.n. und erreichen am 12. d.p.n. im Nucleus supraopticus (36) und Nucleus paraventricularis und am 17. d.p.n. in den anderen Gebieten des Hypothalamus adulte Werte.

II.2. Thalamus

Hier erscheinen die μ -Rezeptoren im ventralen Teil des Thalamus bereits zum Zeitpunkt der Geburt, während sie im dorsalen Anteil erst am 13. d.p.n. zu finden sind. Am 17. d.p.n. ist die Entwicklung beendet. Die mediale Habenula hat ihre μ -Rezeptorenentwicklung bereits zur Geburt abgeschlossen.

Die k-Rezeptoren entwickeln sich zuerst ventromedial (6. d.p.n.) und anschließend dorsal (12. d.p.n.). Durch ihr langsames kontinuierliches Wachstum erreichen sie ihre

Enddichte am 38. d.p.n.

III. Mesencephalon

In der grauen Substanz (pars areticulata) sind in der frühen postnatalen Periode μ - und k-Rezeptoren zu finden. Während die k-Rezeptoren relativ konstant bleiben, verdoppelten sich die μ -Rezeptoren innerhalb von vier Wochen (111).

Die μ - und k-Rezeptoren erscheinen homogen verteilt in der 1. Woche im Colliculus superior und ihre Dichte steigt in den nächsten zwei Wochen an, wobei aber die homogene mehr einer laminären Verteilung weicht (17. d.p.n.). Im Zentralkanal und im ihn umgebenden Tegmentum kommt es nach den Anstieg der μ -Rezeptoren in den ersten 14 Tagen zu einem drastischen Abfall der Rezeptoren und sie sind ab dem 43. d.p.n. nicht mehr nachzuweisen.

Im Gegensatz dazu steigt der k-Rezeptoren-Wert drei Wochen lang kontinuierlich an und bleibt dann konstant.

2.6. Neuropharmakologische Beeinflussbarkeit der Opioidrezeptorenentwicklung im Gehirn von Nagetieren (Ratte und Maus) durch Opiate, Opiode und deren Antagonisten

Tabelle 1: Zusammenfassung der Befunde über die pharmakologischen Effekte von pränataler Morphingabe

WIRKSTOFF	DOSIS	BEHANDLUNGS- ZEITRAUM	EFFEKTE	AUTOR
Morphin	20mg/kg	11.-21.d.p.c.	a) bis 30.d.p.n.: ↓ keine Veränderung am 60.d.p.n.: ↑ d. Rezeptoraffinität b) n.u.	KIRBY et al. (54)
I. Levorphanol II. Dextrorphan (analgesiein- aktives Iso- mer)	2xtgl. 1,0mg/kg (3d), dann 75mg/kg (5d)	5.-12.d.p.c.	a) n.u. b) 5. Woche: $\overset{3}{\uparrow}$ (I), $\updownarrow$ (II) 9. Woche: $\overset{3}{\uparrow}$ (I)	O'CALLAGHAN et al. (82)
Morphin (s. auch Tab. II)	1 Pellet à 75mg	16.d.p.c.	a) ↓ μ ($\updownarrow$ Affinität) $\updownarrow$ δ , κ b) $\uparrow$	TEMPEL et al. (118)
Morphin	2xtgl. 5,0mg/kg (3d) dann 10,0mg/kg (5d)	5.-12.d.p.c.	a) n.u. b) 3., 5., 11. Woche: $\uparrow$ c) Keine Unterschiede in der Blut- und in der Gehirnkonzentration zwischen behandelten Tieren und Kontrollen	O'CALLAGHAN et al. (81)
Morphin (s. auch Tab. III)	2xtgl. 10mg/kg	8.d.a.c. bis 1.d.p.n.	a) $\uparrow$, abhängig von Alter und Gehirnm- region b) n.u.	TSANG und NG (120)
Morphin	15-45mg/kg	5.-18.d.p.c.	a) n.u. b) n.u. c) Verhaltensaktivität: $\uparrow$ Mortalität in 1. Lebenswoche: $\uparrow$	DAVIS et al. (23)
Morphin	20mg/kg	I 2.-5.d.p.c. II 7.-9.d.p.c. III 11.-13.d.p.c. IV 17.-20.d.p.c.	a) n.u. b) $\overset{3}{\uparrow}$ (IV) 13.d.p.n.: $\uparrow$ 21.d.p.n.: $\uparrow$ c) (I-III) Keine teratologischen Befunde	JOHANNESSON und BECKER (47)

Tabelle II: Zusammenfassung der Befunde über die pharmakologischen Effekte von postnataler Morphingabe

WIRKSTOFF	DOSIS	BEHANDLUNGS- ZEITRAUM	EFFEKTE	AUTOR
β -Endorphin (s.auch Tab.IV)	50mg/Tier	2.-7.d.p.n.	a)n.u. b) ⁴ 90.d.p.n.: ↓	SANDMAN et al. (96)
β -Endorphin	I 1µg/Tier II 10µg/Tier III 50µg/Tier	1.-7.d.p.n.	a) 14.d.p.n.: ↓ b) ⁴ : ↑ c)Entwicklung retardiert	ZADINA et al. (133)
Morphin	2mg/kg	21.p.n.	a)n.u. b) ³ : ↑	BARDO et al.(6)
Morphin (s.auch Tab.IV)	5mg/kg	1.-21.d.p.n.	a)µ: ⁴ b) ³ 22.d.p.n.: ↑	BARDO et al.(7)
Morphin	0,5-70mg/kg	I 20.d.p.n. II 26.d.p.n. III 32.d.p.n. IV 42.d.p.n. V Adult	a)n.u. b) ³ : ↑ (II)>(III)>(IV)>(V) c)Morphingehalt im Gehirn: (I)>(II)>(III)>(IV)>(V)	JOHANNESSON und BECKER (75)
β -Endorphin	50µg/kg	2.-7.d.p.n.	a)↓ in verschiedenen Gehirnregionen b) ⁴ : ↓	MOLDOW et al. (75)
Morphin (s.auch Tab.I)	5mg/kg	0.-4.d.p.n. 0.-8.d.p.n. 0.-21.d.p.n. 0.-28.d.p.n.	a)bis zum 8.d.p.n.: ↓↓ bis zum 14.d.p.n.: ↑ bis zum 28.d.p.n.: ↑↑ b)n.u.	TEMPEL et al. (118)
Morphin	1 Pellet à 75mg	I 5.d.p.n. II 11.d.p.n.	a)n.u. b) ³ 48.d.p.n.: (I): ↓ (II): ↑ c)Körpergewicht: ↓	SONDEREGGER et al. (110)
Morphin	1µg/Tier	1.-7.d.p.n.	a)6 Monate: ⁴ δ, ⁴ µ im Striatum u. Nuc. accumbens b)n.u.	HANDELMANN et al. (37)
β -Endorphin	50µg/Tier	2.-7.d.p.n.	a)n.u. b) ⁴ 90.d.p.n.: ↓	SANDMAN et al. (96)
Morphin Phenopredrin	0,01mg/kg 10mg/kg (25d) dann 20mg/kg (15d) dann 40mg/kg(75d)	5.-120.d.p.n.	a)bis 15.d.p.n.: ↑ b)bis 15.d.p.n.: ↑ bis 30.d.p.n.: ↓ ab 30.d.p.n.: ↓	AUGUY-VALETTE et al. (5)

Tabelle III: Zusammenfassung der Befunde über die pharmakologischen Effekte von pränataler Naltrexone- bzw. Naloxonegabe

WIRKSTOFF	DOSES	BEHANDLUNGS- ZEITRAUM	EFFEKTE	AUTOR
Naltrexone (s. auch Tab. IV)	1mg/ml (Trinkwasser)	0.-21.d.p.c.	a)n.u. b) ⁴ : ↑, männl. > weibl.	HARRY und ROSENKRANZ (40)
Naloxone	I 20mg/kg II 40mg/kg	7.-20.d.p.c.	a)n.u. b)n.u. c) 3.-120.d.p.n.: Lernfähig- keit ↑ Entwicklung beschleunigt	VORHEES (124)
Naloxone	I 100mg/ml II 30mg/ml (Mini-Pumpe)	Ia,IIa 17.-24.d.p.c. Ib,IIb 21.-28.d.p.c.	a)n.u. b) ³ : 40.d.p.n.: (IIa) ↓ c)(Ib): Mortalität ↑ (IIa): Körpergewicht ↓	HETTA und TERNIUS (43)
Naloxone (s. auch Tab. I)	5 mg/kg (2xtgl.)	8.d.a.c. bis Geburt	a) ² : ↑, abhängig von Alter und Gehirnregion	TSANG und NG (120)

Tabelle IV: Zusammenfassung der Befunde über die pharmakologischen Effekte von postnataler Naltrexone- bzw.

Naloxonegabe

WIRKSTOFF	DOSES	BEHANDLUNGS- ZEITRAUM	EFFEKTE	AUTOR
Naloxone	I 1mg/kg II 50mg/kg	1.-22.d.p.n.	a)n.u. b)n.u. c)Zunahme des spontanen und senso- motorischen Reaktionsvermögens, (II) >> (I)	ZAGON und McLAUGHLIN (134)
Naloxone (s.auch Tab.V)	I 0,5mg/kg oder II 1,5mg/kg oder III 5,0mg/kg oder IV 15,0mg/kg	1.-21.d.p.n.	a) ¹ : 21.d.p.n.: ↑ 28.d.p.n.: ↓ b)↓	BARDO et al. (8)
Naloxone (s.auch Tab. II)	100µg/kg	2.-7.d.p.n.	a) Adult: ↓ im Hypothalamus b) ⁴ : ↓	MOLDOW et al. (75)
Naloxone (s.auch Tab.II)	100µg/kg	I 2.-7.d.p.n. II Adult	a)n.u. b) ⁴ : (I) 90.d.p.n.: ↓ (II) 90.d.p.n.: ↓	SANDMAN et al. (96)
Naltrexone (s.auch Tab.III)	1mg/ml (Trinkwasser)	1.-21.d.p.c und 1.-21.d.p.n.	a)n.u. b) ⁴ : ↓, männl.>weibl.	HARRY und ROSECRANZ (40)
Naltrexone	I 20mg/kg II 60mg/kg	I 3.-14.d.p.n. II 15.-20.d.p.n.	a)n.u. b) ⁴ : 29.d.p.n.: ↓ ³ : 42.d.p.n.: ↓ c)Reflexe, Körpergewicht ↓	PAUL et al.(84)
Naloxone (s.auch Tab.II)	I 1mg/kg 1xtgl. II 1mg/kg 2xtgl.	1.-21.d.p.n.	a)↑ b) ³ : 22.d.p.n.: ↓ c)Monoaminsystem ↓ Verhalten ↓	BARDO et al. (7)
Naloxone (s.auch Tab.II)	100µg/Tier	2.-7.d.p.n.	a)n.u. b) ⁴ : 90.d.p.n.: ↓	SANDMAN et al. (96)

Tabelle V: Zusammenfassung der Befunde über die pharmakologischen Effekte von Naltrexone- bzw. Naloxonegaben an adulte Versuchstiere

WIRKSTOFF	DOSIS	BEHANDLUNGS- ZEITRAUM	EFFEKTE	AUTOR
Naltrexone	2 Pellets à 30mg	(8 d)	a) 1.d.: μ, δ, k : $\uparrow\uparrow$, Σ : $\uparrow$ ab 6.d.: μ, δ, Σ : $\uparrow$ b) n.u.	TEMPEL et al. (116)
Naltrexone	1 μ l/h (Mini-Pumpe)	(7-8 d)	a) ² : $\uparrow$ in vielen Gehirn- regionen; aber $\downarrow$ in Subst.nigra, Striatum, Locus coeruleus b) n.u.	TEMPEL et al. (117)
Naloxone (s.auch Tab.IV)	1mg/kg 2xtgl.	(21 d)	a) ¹ 1.d.: $\downarrow$ b) n.u.	BARDO et al. (8)
Naltrexone	I 1 μ l/h (Mini-Pumpe) II 2 Pellets à 30mg/kg	I (7-8 d) II (*)	a) 8.d.: μ, δ : $\uparrow\uparrow$, k, Σ : $\uparrow$ 14.d.: $\uparrow$ b) 8.d.: $\downarrow$ 14.d.: $\downarrow$	TEMPEL et al. (117)
Naltrexone	Pellets à 30mg I 1 Pellet II 2 Pellets III 3 Pellets	Ia,IIa,IIIa (24 h) Ib,IIb,IIIb (8 d)	a) Ia bis IIIa: $\uparrow$ Ib bis IIIb: $\uparrow$ (45%) b) Ia bis IIIa: $\uparrow$ Ib bis IIIb: $\downarrow$ (50%) c) Korrelation von a und b	YOSURN et al. (132)

Zeichenerklärung:

Die in Tabelle I bis V verwendeten Zeichen und Abkürzungen haben folgende Bedeutungen:

- a) - Rezeptordichte
- b) - Morphintoleranz
- c) - Besondere Effekte am ZNS und an anderen Organen
- tgl. - täglich
- (xd) - über x Tage hinweg
- (*) - Langzeitbehandlung
- d.a.c. - Tag vor der Konzeption
- d.p.c. - Gestationstag
- d.p.n. - Tag post natum
- 1 (hochgestellt) - untersucht mittels ^3H -markiertem Naloxone
- 2 (hochgestellt) - untersucht mittels ^3H -markiertem Morphin
- 3 (hochgestellt) - untersucht mittels Hot-Plate-Test
(prüft das Schmerzempfinden mit Wärmereiz von einer heißen Platte)
- 4 (hochgestellt) - untersucht mittels Tail-Flick-Test
(Schmerzprobe am Schwanz des Tieres)
- ↑ bzw. ↓ - Anstieg bzw. Rückgang
- ↕ - unverändert
- n.u. - nicht untersucht
- > bzw. < - größer bzw. kleiner

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Versuchstiere

3.1.1. Haltung

Die Versuchstiere waren Albinoratten des Wistar- Stammes, die aus der eigenen Zuchtstation der Gesellschaft für Strahlen und Umweltforschung stammten. Diese Ratten wurden in Einzelkäfigen mit freiem Zugang zu Wasser und Altromin-Pressfutter in vollklimatisierten Räumen mit einer Temperatur von 23°C und einer rel. Luftfeuchtigkeit von 86% gehalten. Die Lichtperiode im künstlichen Beleuchtungsprogramm dauerte von 6 - 18 Uhr.

3.1.2. Paarung

Für die Paarung wurden über Nacht 10 Wochen alte virginelle Weibchen mit gleichaltrigen Männchen zusammen-gestzt. Am nächsten Morgen erfolgte die Untersuchung der Vaginalabstriche auf vorhandenes Sperma. Bei positiven Nachweis galt dieser Tag als 0. Tag post conceptionem (p.c.), der darauf folgende dann als 1. Gestationstag.

3.1.3. Versuchstiergruppen

Die Muttertiere wurden in 4 Versuchsgruppen aufgeteilt:

1. Kontrolle

2. Kontrolle + Naltrexone (50mg/kg) vom 1.-28. Tag p.n.

3. Röntgenbestrahlung (1Gy) am 14. Tag p.c.

4. Röntgenbestrahlung (1Gy) am 14. Tag p.c. + Naltrexone (50mg/kg) vom 1.-28. Tag p.n.

Unmittelbar nach der Geburt wurden die Würfe auf 10 Junge pro Muttertier innerhalb einer Gruppe

ausgeglichen.

3.2. Röntgenbestrahlung

Zur Röntgenbestrahlung wurden die weiblichen Tiere am 14.Tag p.c. zwischen 9-11 Uhr in einen runden Plastikkäfig mit 50 cm Durchmessern und 5 cm Höhe verbracht. Die applizierte Strahlendosis wurde im Zentrum des Gehäuses mit einem Viktoreen-Dosimeter gemessen, und die Bestrahlung erfolgte mit einer Müller-Röntgenröhre MG 300.

Bestrahlungsbedingungen: Röhrenspannung: 180 kv

Stomstärke: 15 mA

Filterung: 0.3 mmCu

Fokus-Objekt-Abstand: 40 cm

Oberflächendosisleistung: 0.01 Gy
pro sec

Die Gesamtkörperdosis der trächtigen Ratten aus den Gruppen 3 und 4 betrug 1 Gy.

3.3. Naltrexonebehandlung

Naltrexone wurde in steriler PBS in 3 unterschiedlichen Konzentrationsstärken gelöst, welche je nach Alter bzw. Gewicht der Jungtiere zur Anwendung kam. Dadurch konnte bei einer täglichen Einzeldosis vom 1. bis 28. d.p.n. in Höhe von 50 mg/kg das applizierte Einzelvolumen mit 0.05-0.2 ml pro Tier relativ konstant gehalten werden. Die Naltrexonegaben erfolgten täglich jeweils zwischen 9.00 und 10.00 Uhr durch Injektion im Nackenbereich.

3.4. Anfertigung der Autoradiographien und der histologischen Präparate

3.4.1. Applikation von 3-H-Thymidin

Zur histologischen Untersuchung wurde aus allen Gruppen eine bestimmte Anzahl von Tieren (s. Tab.1) entnommen. Eine Stunde vor der Tötung erhielt ein Teil von diesen Tieren (s.Tab. 1) eine einmalige intraperitoneale Injektion von $5\mu\text{Ci/g}$ Körpergewicht Methyl-3-H-Thymidin (spezifische Aktivität 50-80-Ci/mmol, New England Nuclear Dreieich).

Zusätzlich wurden weitere Tiere (s.Tab. 1) im Alter von 16, 20 und 24 Wo. ohne 3-H-Thymidin Behandlung der histologischen Untersuchung zugeführt.

3.4.2. Präparation und Herstellung der histologischen Schnitte

An den Sektionstagen, 1 Std.nach der 3-H-Thymidin Applikation, wurden diese und die unbehandelten Tiere durch Äthernarkose getötet. Nach der Feststellung des Körpergewichtes wurden Gehirn, Thymus, Milz und Nieren rasch entnommen, gewogen und in 8%-igem Formalin fixiert. Nach frühestens 8 Tagen erfolgte die Einbettung von mehreren in Querrichtung entnommenen Scheiben des Vorderhirns im Bereich von Bregma +0.5 mm bis Bregma -0.8 mm (85). Von den eingebetteten Objekten wurden Serienschnitte von 6 μm Dicke angefertigt. Ein Teil der Schnitte wurde anschließend mit Hämatoxylin und Eosin (HE) gefärbt. Diese Präparate dienten der genauen Charakterisierung der Veränderungen, sowie zur Mitosenzählung.

3.4.3. Entwicklung und Fixierung der Autoradiographien

Die entparaffinierten Schnitte wurden in eine Kodak NTB-

2-Emulsion getaucht und anschließend für 3 Wochen bei 40°C im Dunkeln exponiert. Nach der Entwicklung der Autoradiographien im Kodak D-19-Entwickler und der Fixierung mit Kodak "Unifix" folgte nach dem Trocknen die H.E.-Färbung.

3.4.4 .Auswertung und Beurteilung der Präparate

Die angefertigten histologischen Schnitte und Autoradiographien wurden mit dem Leitz Lichtmikroskop bei 10 - 40 facher Vergrößerung untersucht. Die photographische Dokumentation erfolgte mit dem Leitz Wild M 400 bzw. dem Zeiss Fotomikroskop.

3.5. Darstellung der Ergebnisse

Die am Sektionstag bestimmten Körpergewichte wurden in Tabelle 2 und 3 festgehalten. Die einzelnen Organgewichte wurden zum jeweiligen Körpergewicht in Relation gesetzt. Dieser prozentuale Anteil wurde in Tabellen und Säulendiagrammen dokumentiert. Die Mitoserate ergibt sich aus dem Verhältnis der Anzahl der mitotischen Zellen zur Gesamtzellzahl der Ependymalzone und wird, wie der Markierungsindex der Autoradiographie, graphisch als Säulendiagramm dargestellt.

4. ERGEBNISSE

4.1. Zusammenfassung der Körpergewichts- und Organgewichtsentwicklung bei den 4 Versuchstiergruppen

I. Gewichtsentwicklung

Alle Gruppen nahmen kontinuierlich an Gewicht zu, wobei der Gewichtszuwachs der Kontrollgruppen gegenüber den bestrahlten Tieren größer war. Der größte Wachstumsschub fand in jeder Gruppe zwischen der 4. und 6. Woche statt, und während die Kontrolltiere in dieser Zeit ihr Gewicht fast verdreifachten, wuchsen die bestrahlten und mit Naltrexone behandelten Tiere um die Hälfte ihres vierwöchigen Körpergewichtes.

Von der 8. bis zur 12. Woche stieg das Gewicht der Kontrollgruppen langsam und kontinuierlich an, während die röntgenbestrahlten Tiere ihre Wachstumsrate steigerten.

Die Gewichtsentwicklung der weiblichen Tiere verlief langsamer als bei den männlichen.

II. Gehirngewichtsentwicklung

Das Gehirngewicht nahm in den Kontrollgruppen zwischen der 4. und 6. Woche zu und blieb dann mit Ausnahme einiger Schwankungen relativ konstant.

Die Gehirngewichte der röntgenbestrahlten Tiere waren in der 4. Woche deutlich geringer als bei den Kontrollen. Dieses Defizit wurde auch in den nächsten Wochen nicht aufgeholt. Innerhalb dieser Gruppe hatten in der 4. Woche die mit Naltrexone behandelten Tiere ein größeres Gehirngewicht als die nur bestrahlten Ratten. Letztere konnten die Differenz in der 6. Woche ausgleichen.

Der Unterschied zwischen den Gehirngewichten bei männlichen und weiblichen Ratten war verhältnismäßig geringer

als beim Körpergewicht.

Im Verhältnis zum schnell wachsenden Körpergewicht nahm das Gehirngewicht langsamer zu, so daß der prozentuale Gehirngewichtsanteil zum Körpergewicht generell abnahm. Diese Abnahme war besonders deutlich zwischen der 4. und 6. Woche, wo eine große Körpergewichtszunahme zu beobachten war.

III. Milz- und Thymusgewichtsentwicklung

Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen oder den männlichen und weiblichen Tieren. Das prozentuale Milz- und Thymusgewicht zum Körpergewicht nahm im Laufe der Untersuchungsperiode um die Hälfte ab.

4.2. Kontrolltiere

4.2.1. Histologische Befunde

Nach vier Wochen hob sich die Ependymzone (EZ) der lateralen Wand der Seitenventrikel (SV) des frontalen Vorderhirns undeutlich von der Subependymalzone (SEZ) ab, da sich in vielen Fällen das färberische Verhalten der diesen Zonen zuzurechnenden Zellen im Haematoxylin-Eosin-Präparat (HE) nicht unterscheiden ließ. Lediglich die kleineren dunklen, etwas polygonal gestalteten Zellkerne von Zellen, welche auf keinen Fall an der Oberflächengestaltung mitwirkten, waren eindeutig der SEZ zuzuschreiben.

Im Alter von sechs Wochen kam es zu einer deutlicheren Unterscheidung von EZ und SEZ. Der Durchmesser von beiden Zonen war geringer und ließ auch sonst keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den vierwöchigen Kontroll-

tieren erkennen (Abb. 7).

Der histologische Aufbau von EZ und SEZ in der 8. bis 12. Woche unterschied sich nicht von den jüngeren Kontrolltieren. Bis zur 12. Woche war eine Tendenz zur Abnahme des Durchmessers von EZ und SEZ mit einer gleichzeitigen, geringfügigen Reduktion der Zellanzahl in der SEZ festzustellen (Abb. 8).

4.2.2. Mitoserate in der telencephalen SEZ

Die Mitoserate nahm am stärksten von der 4. ($1.72 \pm 0.17\%$) bis zur 6. Woche ($0.65 \pm 0.1\%$) ab und reduzierte sich dann gleichmäßig bis zur 12. Woche ($0.15 \pm 0.04\%$).

4.2.3. Markierungshäufigkeit in der telencephalen SEZ

Von der 4. bis zur 12. Woche verringerte sich die Anzahl der markierten Zellen kontinuierlich um die Hälfte.

4.3. Mit Naltrexone behandelte Kontrolltiere

4.3.1. Histopathologische Befunde

Der histologische Aufbau der lateralen Ventrikelwand nach vier Wochen entsprach dem der gleichaltrigen Tiere, die nicht mit Naltrexone behandelt worden waren. Im Unterschied zu letzteren war jedoch eine prallere Füllung der SEZ-Gefäße festzustellen (Abb. 9.). Das Gewebe zeigte eine deutlich gelockerten Strukturierung bis hin zur zystischen Erweiterung des perivaskulären Gewebes, welches auch am stärkeren Auseinanderweichen der Zellen der SEZ zu erkennen war.

Nach sechs bis zwölf Wochen wurde der oben festgestellte

Befund bestätigt. Es war auffallend, daß in der 12. Woche die Ependymzellen deutlich kubischere Formen besaßen als bei den vergleichbaren Kontrollen (Abb.10).

4.3.2. Mitoserate in der telencephalen SEZ

Die Mitoserate, die deutlich höher war als die bei den Kontrollen in der 4. Woche ($2.20 \pm 0.2 \%$), stieg bis zur 6. Woche leicht an. In der 8. Woche war dann ein sehr starker Anstieg auf $3.77 \pm 0.3 \%$ zu beobachten, der in der 10. Woche auf $1.03 \pm 0.15 \%$ abfiel und sich bis zur 12. Woche nochmals annähernd halbierte ($0.55 \pm 0.12 \%$).

4.3.3. Markierungshäufigkeit in der telencephalen SEZ

Die Markierungskurve zeigte einen zwei-gipfeligen Verlauf, mit dem 1. Gipfel in der 6. Woche (24.91 %) und dem 2. in der 10. Woche (23.69 %). Die dazwischen liegenden Werte in der 8. Woche lagen bei 19.3 %.

4.4. Röntgenbestrahlung am 14. Gestationstag

4.4.1. Histopathologische Befunde

Nach der Bestrahlung gab es verschiedene Befundbilder.

Schädigungstyp 1: Tiere mit Resten von Ependym im Dach des Telencephalon

Die dorsale Wand der Seitenventrikel wurde bis auf einige Lücken von einer nahezu geschlossenen Schicht Ependymzellen bedeckt, welche eine relativ flache Zellform besaßen. Gleichzeitig wurde häufig ein Hydrocephalus internus (Abb.11) beobachtet.

Die SEZ war nur in Form spärlicher Reste vorhanden. Das darunter liegende Parenchym war ödematös aufgelockert.

Schädigungstyp 2: Tiere mit dicht gepackten Gliazellfortsätzen als Ventrikeldachbegrenzung

Dieser Typ zeichnete sich im Gegensatz zu den oben aufgeführten Befunden dadurch aus, daß dorsal, aber auch in den dorsolateralen Abschnitten, keinerlei ependymale Begrenzung erkennbar war. Die SEZ fehlte ebenfalls vollständig, bzw. war in den lateralen Abschnitten relativ spärlich vorhanden. Die Begrenzung des Gehirnparenchyms gegenüber der deutlich erweiterten Ventrikelhöhle wurde ausschließlich durch ein relativ homogen erscheinendes zellkernarmes Ersatzgewebe aus Gliazellfortsätzen gewährleistet. Auf dessen Oberfläche waren auch einzelne "supraependymale Zellen" (Makrophagen ?) zu sehen. Das Parenchym war wie beim Schädigungstyp 1 stark ödematös aufgelockert.

Schädigungstyp 3: Bevorzugtes Auftreten dysgenetischer Symptome

Der 3. Typ ähnelte insofern dem letzten Befund, da es zu einem nahezu vollständigen Verschwinden von EZ und SEZ kam. Andererseits waren noch einige wenige Reste von Ependymzellen im dorsalen und dorsolateralen Ventrikelbereich zu erkennen (Abb. 12), welche auch schon bei kleiner Vergrößerung ein deutlich erkennbares, ektopisches Kerngebiet flankierten. Dies bedeutete, daß sich unmittelbar an der dorsalen Ventrikelloberfläche ein relativ kompaktes Areal von neuronalen Zellen bildete, welches halbkugelförmig in das Ventrikellumen hineinragte. Dieses Gebiet zeichnete sich weiterhin durch eine gute Gefäßversorgung aus. Die üblicherweise an der Ventrikelloberfläche tangential verlaufenden Kommissurenbahnen wurden durch dieses weitgehend differenzierte, neuronale Kerngebiet nach dorsal verdrängt. An der Ventrikellumenoberfläche des dysgenetischen Bereichs waren keine Ependymzellen zu erkennen. Die Abgrenzung war wie beim Schädigungstyp 2 gliös und wurde von einer ödematösen Randzone begleitet.

Beim Schädigungstyp 1 war in der 6. bis 12. Woche stets eine ausgeprägte Ependymzone vorhanden, welche weitgehend geschlossen war und aus einem kubischen Zelltyp bestand, der sich nicht von der Kontrollsituation unterschied. Im Gegensatz zu den Kontrollen war die ependymale Oberfläche jedoch häufig mit unregelmäßigen Einsenkungen versehen. Auch die Dicke der SEZ variierte in ihrer Breite. Letztere setzte sich aus Zellen mit großen, hellen Zellkernen und dazwischen eingestreuten Zellen mit kleineren, dunklen Kernen zusammen, die im Umkreis von Gefäßen besonders deutlich zu erkennen waren (Abb.13). Generell war die ödematöse Auflockerung im Vergleich zu den vier Wochen alten Tieren geringfügiger und beschränkte sich auf eine bandartige Zone im Anschluß an die SEZ.

Beim Schädigungstyp 2 war der Befund unverändert, außer einer intensiven Zunahme der Packungsdichte der Gliazellfortsätze die das geschädigte Parenchym gegen das Ventrikellumen abgrenzten. Dazwischen eingestreut lagen vereinzelte, ependymähnliche Zellen, die durch einen großen, hellen Zellkern und langen Zytoplasmaausläufern imponierten. Lediglich im Bereich der heterotopen Kerngebiete kam es zu einer geringen bis mittelgradigen Zunahme der flankierenden Zellen, welche einer regulären SEZ zuzuordnen waren. Dieses SEZ-ähnliche Gebiet hatte in Richtung auf die Oberfläche des heterotopen Kerngebietes hinggerichtete Zellen, die die Lumenseite der Heterotopie spärlich und unvollständig bedeckten. Diese Zellen waren teils den Gliazellen, teils den supraependymalen Zellen zuzuordnen.

4.4.2. Mitoserate in der telencephalen SEZ

Die Mitoserate war in der 4. Woche $1.33 \pm 0.26 \%$ und nahm bis zur 6. Woche auf $2.25 \pm 0.28 \%$ zu, um in den

nächsten 14 Tagen wieder geringfügig unter den Wert nach vier Wochen abzufallen. Dieser Wert blieb bis zur 12. Woche konstant und fiel im anschließenden Zeitraum gegen Null.

4.4.3. Markierungshäufigkeit in der telencephalen SEZ

Die Markierungsdichte zeigte sich relativ intensiv. Die markierten Zellen waren auch relativ gleichmäßig in der Subependymalzone verteilt. Insgesamt blieb die Markierungsanzahl bis zur 6. Woche ziemlich konstant, fiel dann aber um ca. 40 % in der 8. Woche ab, um dann bis zur 10. Woche auf das Doppelte anzusteigen. Danach fiel die Frequenz markierter Zellen sehr stark ab, bis auf 6.15 % in der 12. Woche.

4.5. Pränatale Röntgenbestrahlung und postnatale Naltrexonebehandlung

4.5.1. Histopathologische Befunde

Beim Schädigungstyp 1 war die EZ gleichbleibend gut ausgebildet. In der SEZ, die eine lockere und spongiöse Struktur aufwies, war eine verminderte Zelldichte festzustellen.

Nach sechs Wochen kam es in allen Fällen, in denen eine Ependymzone zu erkennen war, unmittelbar im Anschluß an diese, zu einer ausgeprägten Umfangsvermehrung der SEZ. Diese trat in Form von multiplen Knötchen auf oder auch als plaqueförmige Erhebungen. Solche regional intensiven Ausprägungen der SEZ wurden abrupt abgelöst von unauffälligen SEZ-Bereichen. Diese markanten Verdickungen bestanden hauptsächlich aus kleinen polygonal geformten Zellen, mit intensiv anfärbbaren Kernen und wenig Zytoplasma. Sie waren in der Regel sehr dicht gepackt und

wiesen sogar klumpenförmige Aggregate auf. Im Gegensatz zu ihrer sehr guten Abgrenzbarkeit gegenüber dem nachfolgenden Parenchymzonen des Gehirns zeigten diese subependymalen Knoten als besonderes Charakteristikum einen sehr intensiven Kontakt mit den sie bedeckenden Ependymzellen (Abb. 14 und 15). In der Autoradiographie zeigten diese prominenten Subependymbereiche keine Markierung, mit Ausnahme der dem Gehirnparenchym zugewandten Seite (Abb. 16).

In der 8. Woche waren andeutungsweise noch knotige Erhebungen des Subependyms mit dem darüberliegenden Ependym zu erkennen. Letztere Schicht war eine intakte Lage flachkubischer Zellen, während die SEZ ein aufgelockertes, spongiöses Aussehen hatte. Deren Durchmesser war jedoch größer als bei den Kontrolltieren. Durch das verringerte Auftreten der Zellen mit kleinen, dunklen Zellkernen traten diejenigen Zellen mit hellen Kernen optisch wieder deutlich in den Vordergrund (Abb. 17).

In der 10. Woche nahm der Durchmesser der SEZ weiter ab. Die lockere, spongiforme Strukturierung blieb weiterhin bestehen.

In der 12. Woche kam es bei den Fällen, die nach wie vor eine intakte Ependymauskleidung zeigten (Schädigungstyp 1), zu keinen weiteren auffälligen Befunden.

Bei Schädigungstyp 2 und 3 war eine Ventrikelbegrenzung mit polymorphen Zellen zu beobachten, die offensichtlich ependymzellähnliche Funktionen übernahmen. Zum Teil lagen diese polymorphen Zellen in einschichtiger Form, zum Teil aber auch mehrschichtig auf der Oberfläche des Gehirnparenchyms. Nach 4 bis 6 Wochen schoben sich diese Zellen über die gliale Abgrenzung, die sich zwischen Ventrikellumen und dem anschließenden Gehirnparenchym gebildet hatten. Die sich in solcher Weise vorschiebenden Zellen ähneln jenen, die in den

Resten der SEZ zu finden waren. Hauptsächlich grenzten dabei die kleinen, dunklen Zellen das Ventrikellumen ab, während die Zellen mit den hellen Kernen überwiegend die tieferen Schichten besiedelten (Abb. 18).

In den Fällen, wo die SEZ ein heterotopes Kerngebiet flankierte, kam es zu einer sehr deutlichen Vergrößerung des Subependyms. Die SEZ zeigte in diesen Bereichen ein pleomorphes Zellbild mit unterschiedlich großen Kernen, welche außerdem ein großes Anfärbungsspektrum im HE-Schnitt besaßen. Weiterhin war auffällig, daß diese Gebiete durch eine unregelmäßige Zelldichte gekennzeichnet waren, die keinen klaren strukturellen Aufbau, z.B. in Form von Laminierung oder Bündelung erkennen ließen, sondern sich unregelmäßig in das angrenzende Gehirnparenchym vorschoben. Auf Grund dieser Eigenschaften sind diese Gebilde als eine Dysplasie mit Verdacht auf neoplastische Potenz aufzufassen (Abb. 19 und 20). Solche Befunde wurden in 7 der 10 untersuchten Großhirne gefunden.

4.5.2. Mitoserate in der telencephalen SEZ

Die Mitoserate war mit den 4 Wochen alten Kontrolltieren mit Naltrexonebehandlung zu vergleichen, wobei sie aber im Gegensatz dazu in den folgenden Wochen kontinuierlich abnahm. In der 10. und 12. Woche betrug der Wert 0.75 % und fiel dann ab.

4.5.3. Markierungshäufigkeit in der telencephalen SEZ

Die Dichte der markierten Zellen verringerte sich sehr stark von der 4. bis zur 6. Woche. In der 10. Woche war eine starke Erhöhung und anschließend ein Abfall der Werte zu beobachten.

4.6. Weitere Späteffekte

In der 14. Woche wurde ein Tier im moribunden Zustand seziert. Es fand sich ein ausgeprägtes anaplastisches Astrocytom im Mittelhirnbereich mit lobulärer Ausbreitung und deutlicher zentraler Nekrose (Abb. 20 und 21).

Zusammenfassung der pathologischen Befunde

Gewebeaufbau

a)EZ	starke Zerstörung und teilw. Ependymneste	rel.intakt, dichter Kontakt mit der SEZ	Ependymneste ohne Kontakt zur SEZ
b)SEZ	von SE-Zellen seitlich flankiert irreguläre Anordnung	dicht gepackt, Knoten u. Plaques	lockere Strukturierung

c)Zellkerne der SEZ	unauffällig	dunkel	dunkle und helle Kerne, pleomorph in Größe und Chromatingehalt
------------------------	-------------	--------	--

<u>Abgrenzung</u>	deutlich	deutlich	unscharf
-------------------	----------	----------	----------

<u>Mitoserate</u>	erlischt zur Geburt	vermutlich zw.4.u. 6.Wo., dann regulär	starker Anstieg ab 4. Wo. bis ?
-------------------	---------------------	---	------------------------------------

<u>Tendenz</u>	passiv	regressiv	aktiv - progressiv
----------------	--------	-----------	--------------------

4.7. ANHANG: Tabellen, graphische Darstellungen, Abbildungen

4.7.1. Tabellen

Tabelle 1: Anzahl der Tiere

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100R	Rö 100R + Naltexon
4	2 (2)	2 (2)	9 (2)	7 (2)
6	4 (2)	4 (2)	7 (2)	9 (4)
8	4 (2)	4 (2)	9 (2)	11 (4)
10	4 (2)	4 (2)	8 (2)	10 (4)
12	4 (2)	4 (2)	8 (2)	10 (4)
16	-	-	4	4
24	-	-	3	3

x = Anzahl der Tiere insgesamt

() = Anzahl der 3-H-Thymidin markierten Tiere

Tabelle 2: Gewichte der männlichen Ratten in Gramm

Alter	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100 R	Rö 100 R + Naltrexone
4	75	62	66.5	77
6	203±3	149±2	135±10	110±18
8	205±16	204±6	134±12	170±21
10	234±29	247±2	171±13	214±24
12	263±8	272±13	232±17	196±8

Tabelle 3: Gewichte der weiblichen Ratten in Gramm

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100 R	Rö 100 R + Naltrexone
4	61	53	68	66.5
6	143±3	119±5	104±8	98±14
8	157±4	150±17	119±6	128±17
10	179±7	175±6	140±11	143±9
12	185±13	185±4	--	149±2

Tabelle 4: Gehirngewichte der männlichen Ratten in Gramm

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100 R	Rö 100 R+ Naltrexone
4	1.67	1.39	1.12	1.28
6	1.91±0.2	1.81±0.01	1.27±0.05	1.14±0.09
8	1.83±0.1	1.84±0.01	1.33±0.11	1.25±0.05
10	2.01±0.02	1.87	1.21±0.03	1.48±0.17
12	1.98±0.06	1.93±0.05	1.33±0.28	1.29±0.01

Tabelle 5: Gehirngewichte der weiblichen Ratten in Gramm

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100 R	Rö 100 R + Naltrexone
4	1.56	1.32	1.07	1.1
6	1.81±0.1	1.60±0.12	1.23±0.01	1.12±0.1
8	1.81±0.02	1.75±0.08	1.24±0.07	1.18±0.08
10	1.86±0.08	1.75±0.01	1.22±0.05	1.21±0.1
12	1.86±0.03	1.86	--	1.22±0.2

Tabelle 6: Prozentualer Anteil des Gehirngewichts am Körpergewicht männlicher Ratten

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100 R	Rö 100 R + Naltrexone
4	2.23	2.24	1.68	1.66
6	0.95±0.01	1.22±0.01	0.94±0.04	1.05±0.11
8	0.90±0.03	0.90±0.02	1.0±0.01	0.73±0.05
10	0.83±0.17	0.76±0.01	0.71±0.04	0.7±0.15
12	0.76±0.05	0.72±0.02	0.58±0.02	0.67±0.01

Tabelle 7: Prozentualer Anteil des Gehirngewichtes am Körpergewicht bei weiblichen Ratten

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100 R	Rö 100 R + Naltrexone
4	2.56	2.1	1.58	1.65
6	1.26±0.03	1.35±0.05	1.19±0.1	1.15±0.07
8	1.15±0.04	1.18±0.08	1.05±0.01	0.93±0.09
10	1.04±0.04	1.0±0.03	0.68±0.17	0.85±0.11
12	1.0±0.06	0.98±0.03	--	0.32±0.05

Tabelle 8: Prozentualer Anteil des Thymusgewichts am Körpergewicht bei männlichen Ratten

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100 R	Rö 100 R + Naltrexone
4	0.43	0.53	0.47	0.43
6	0.27±0.01	0.34±0.04	0.33±0.03	0.35±0.04
8	0.24	0.27±0.01	0.27±0.04	0.22±0.06
10	0.18±0.03	0.2±0.02	0.23±0.02	0.19±0.01
12	0.15±0.01	0.17	0.16±0.01	0.15±0.01

Tabelle 9: Prozentualer Anteil des Thymusgewichts am Körpergewicht bei weiblichen Ratten

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100 R	Rö 100 R + Naltrexone
4	0.49	0.55	0.47	0.47
6	0.39±0.02	0.39±0.03	0.39±0.05	0.38±0.02
8	0.31±0.02	0.29±0.01	0.28±0.06	0.32±0.02
10	0.24±0.04	0.25±0.03	0.30±0.01	0.26±0.01
12	0.21±0.01	0.24±0.04	--	0.19±0.02

Tabelle 10: Prozentualer Anteil des Milzgewichts am
Körpergewicht bei männlichen Ratten

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle+ Naltrexone	Rö 100 R	Rö 100 R + Naltrexone
4	0.41	0.55	0.42	0.40
6	0.31	0.43±0.01	0.39±0.01	0.38±0.02
8	0.32±0.02	0.22±0.03	0.3±0.01	0.29±0.031
10	0.32±0.06	0.19±0.01	0.27±0.02	0.26±0.01
12	0.25	0.2±0.04	0.24±0.01	0.28±0.01

Tabelle 11: Prozentualer Anteil des Milzgewichts am
Körpergewicht bei weiblichen Ratten

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle + Naltrexone	Rö 100 R	Ro 100 R + Naltrexone
4	0.36	0.52	0.44	0.44
6	0.33±0.01	0.4±0.04	0.37±0.01	0.35±0.03
8	0.33±0.03	0.24±0.01	0.29±0.02	0.34±0.09
10	0.28	0.19±0.02	0.29±0.01	0.3±0.03
12	0.28±0.01	0.24±0.02	--	0.29±0.02

Tabelle 12: Anteil der in Mitose befindlichen Zellen von allen SEI-Zellen

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle - Naltrexone	Ro 100 R	Ro 100 R + Naltrexone
4	1.72±0.17	2.20±0.2	1.33±0.26	2.03±0.33
6	0.65±0.1	2.51±0.18	2.25±0.29	1.62±0.23
8	0.43±0.05	3.77±0.31	1.05±0.21	1.77±0.18
10	0.40±0.06	1.03±0.15	1.34±0.2	0.75±0.1
12	0.15±0.04	0.55±0.12	1.12±0.25	1.75±0.15
16	0.10±0.03	0.	0.20±0.06	0.45±0.1
24	0.10±0.03	0.	0.20±0.07	0.22±0.06

Tabelle 13: Anteil der markierten Zellen von allen SEI-Zellen

Alter in Wo	Kontrolle	Kontrolle - Naltrexone	Ro 100 R	Ro 100 R + Naltrexone
4	16.82±0.52	19.35±1.71	19.71±4.63	23.12±0.21
6	16.47±0.23	24.91±0.32	16.28±2.29	8.93±2.06
8	14.07±0.21	20.92±0.79	9.06±2.36	7.63±1.21
10	12.93±1.02	23.62±4.21	11.81±4.21	19.29±4.84
12	9.45±1.66	19.27±4.21	6.18±2.21	11.73±0.31

4.7.2. Graphische Darstellungen

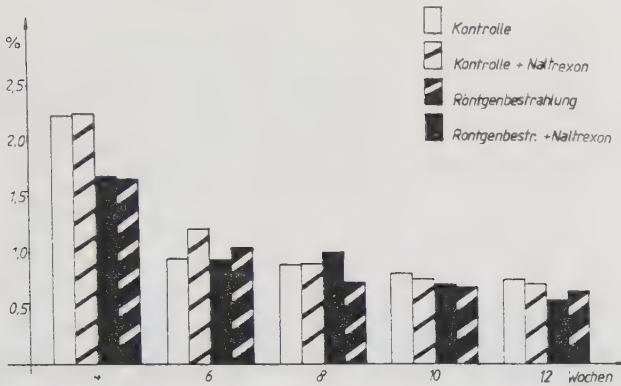


Abb.1: Prozentualer Anteil des Gehirngewichts am Körpergewicht bei den männlichen Versuchstieren zwischen 4 und 12 Lebenswochen



Abb.2: Prozentualer Anteil des Gehirngewichts am Körpergewicht bei weiblichen Versuchstieren (Gruppeneinteilung siehe Abb.1) zwischen 4 und 12 Wochen



Abb.3: Prozentualer Anteil des Thymusgewichts am Körpergewicht bei den männlichen Versuchstieren (Gruppeneinteilung siehe Abb.1) zwischen 4 und 12 Lebenswochen



Abb.4: Prozentualer Anteil des Thymusgewichts am Körpergewicht bei den weiblichen Versuchstieren (Gruppeneinteilung siehe Abb.1) zwischen 4 und 12 Lebenswochen



Abb. 5: Prozentualer Anteil des Milzgewichts am Körpergewicht bei männlichen Versuchstieren (Gruppeneinteilung siehe Abb. 1) zwischen 4 und 12 Lebenswochen



Abb. 6: Prozentualer Anteil des Milzgewichts am Körpergewicht bei weiblichen Versuchstieren (Gruppeneinteilung siehe Abb. 1) zwischen 4 und 12 Lebenswochen

4.7.3. Abbildungen

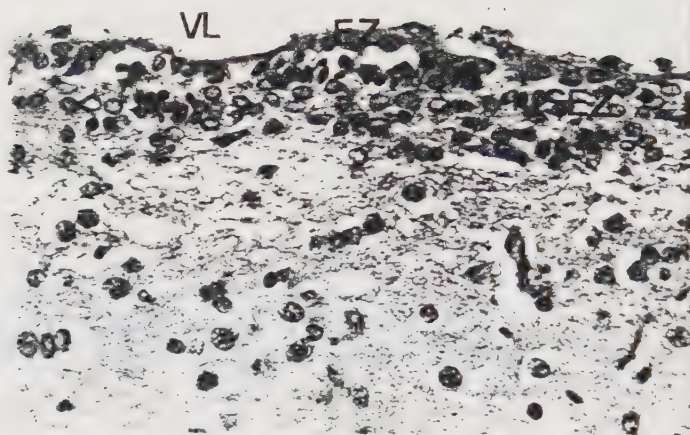


Abb.7 : Kontrolltier, Alter 6 Wo. Ausschnitt der lat. Wand des Seitenventrikels des frontalen Vorderhirns. Es ist eine deutliche Trennung der Ependymzone (EZ) von der Subependymzone (SEZ) zu erkennen. Färb.: HE, Vergr.: 875x

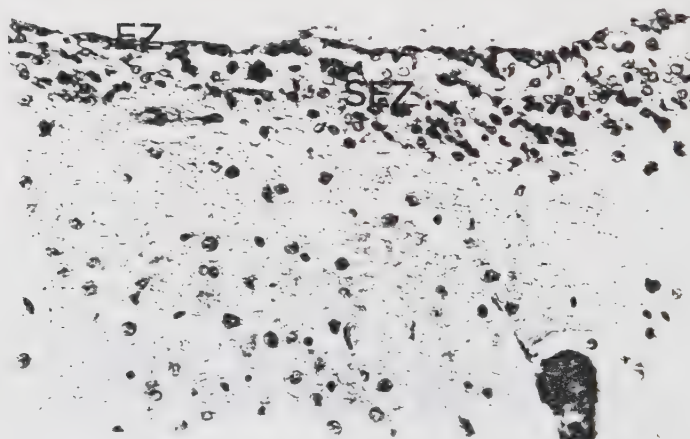


Abb.8: Kontrolltier, Alter 12 Wo., lat.Ventrikelwand (Vw). Der histologische Aufbau der EZ und der SEZ unterscheidet sich nicht wesentlich von Abb.7, es kommt zu einer leichten Reduktion des Durchmessers dieser beiden Zonen. Färb.: HE, Vergr.: 560x



Abb.9: Kontrolltier mit Naltrexone (Nx) behandelt, Alter 4 Wo., lat. Vw. Der histologische Aufbau entspricht den Kontrollen. Die SEZ-Gefäße sind stärker gefüllt und das Gewebe ist insgesamt ödematös und aufgelockert. Färb.: HE, Vergr.: 560x

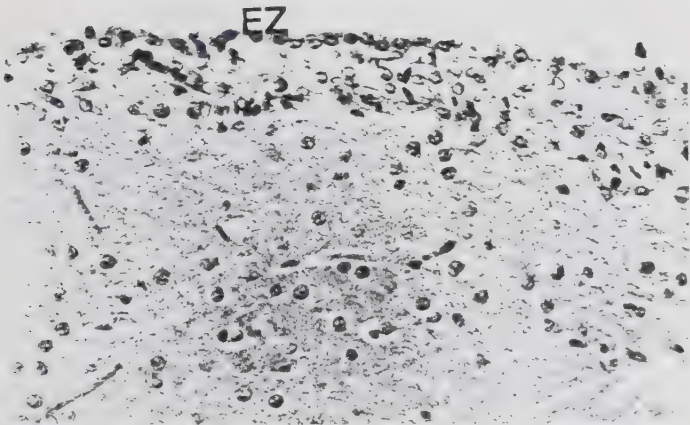


Abb.10: Kontrolltier mit Nx behandelt, Alter 12 Wo., lat. Vw. EZ und SEZ sind deutlich unterscheidbar. Die Ependymzellen zeigen kubische Gestalt. Farb.: HE, Vergr.: 560x

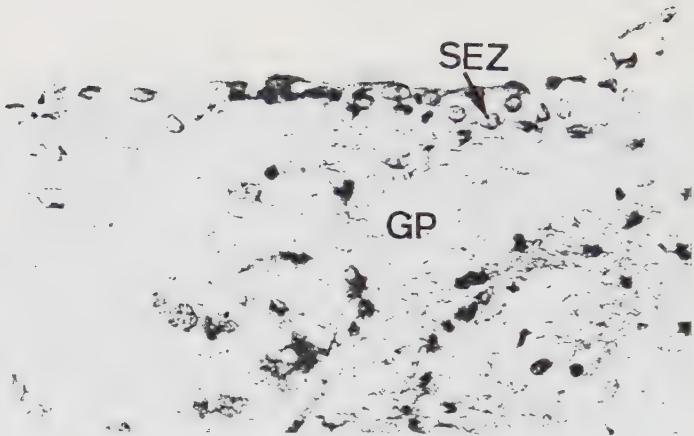


Abb.11: Röntgenbestrahlung (Rö) am 14.d.p.c., Alter 4 Wo., dors.Vw. Vw wird teilweise von Ependymzellen bedeckt, die SEZ ist nur in Resten (Pfeil) vorhanden; das Parenchym ist ödematös aufgelockert. (Hydrocephalus internus) Schädigungstyp 1. Färb.: HE, Vergr.: 875x

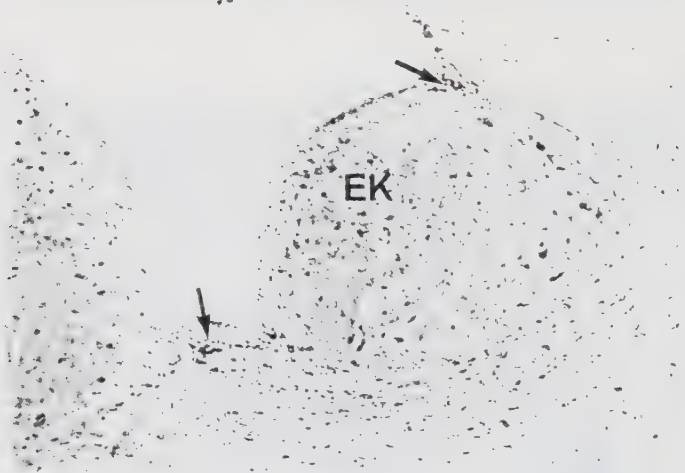


Abb.12: Rö., Alter 4 Wo, dorsolat. Vw. EZ und SEZ verschwinden bis auf spärliche Reste (Pfeil), welche ein ektopisches Kerngebiet flankieren, die Oberfläche dieses dysgenetischen Bereiches ist glios-zytoplasmatisch. Schädigungstyp 3. Färb.: HE, Vergr.: 140x

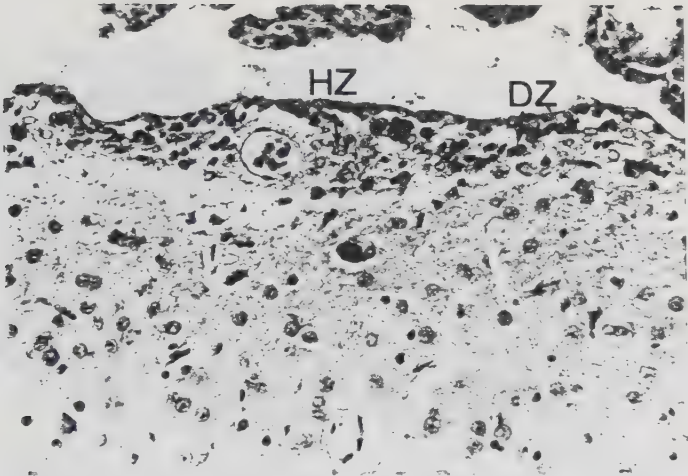


Abb.13: Rö., Alter 6 Wo., lat Vw. Ausgeprägte EZ, in der SEZ sind Zellen mit großen hellen und kleinen dunkleren Kernen. Die ödematöse Auflockerung beschränkt sich auf eine bandartige Zone unter der SEZ. Färb.: HE, Vergr.: 560x



Abb.14: Rö.+ NX, Alter 6 Wo., lat. Vw. Die SEZ zeigt plaqueförmige Umfangsvermehrungen die aus kleinen polygonal geformten Zellen mit intensiv gefärbten Kernen und wenig Zytoplasma bestehen. Diese stehen in engem Kontakt mit intakter SEZ. Färb.: HE, Vergr.: 875x

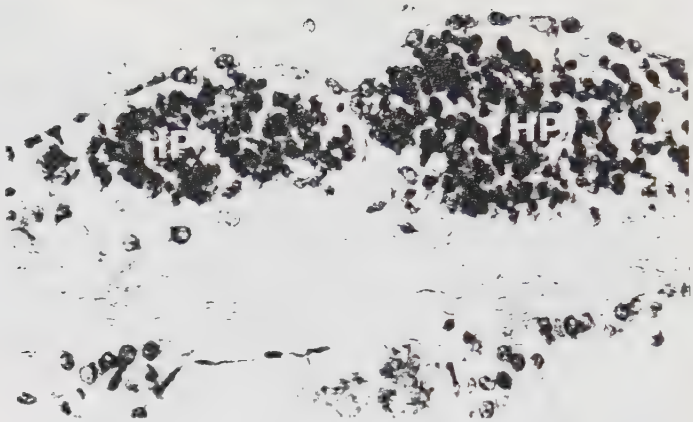


Abb.15: siehe Abb. 14. Der Übergang der Proliferationsbezirke zu völlig unveränderten SEZ-Gebieten ist abrupt. Färb.: HE, Vergr.: 875x

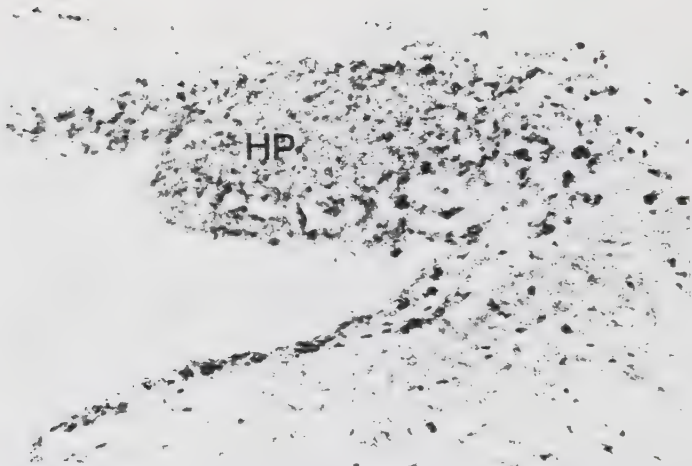


Abb.16: Rö. - NX, Alter 6 Wo., ventr. Vw. Starke Vermehrung der Zellen der SEZ, insb. der kl.Zellen mit intensiv angefärbten Kernen. Diese Hyperplasie zeigt bis auf die Randgebiete keinen 3-H-Thymidineinbau. Färb.: Autoradgr. u. HE, Vergr.: 350x

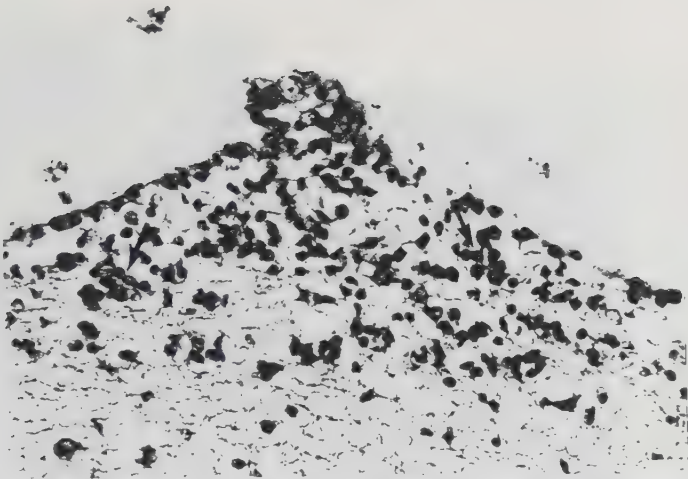


Abb.17: Rö. + NX, Alter 8 Wo., lat. Vw. In der SEZ sind knotige Erhebungen mit darüberliegenden Ependym zu erkennen, die kleinen, polygonalen, dunklen Zellen treten unregelmäßig verstreut auf (Pfeil). Färb.: HE, Vergr.: 560x

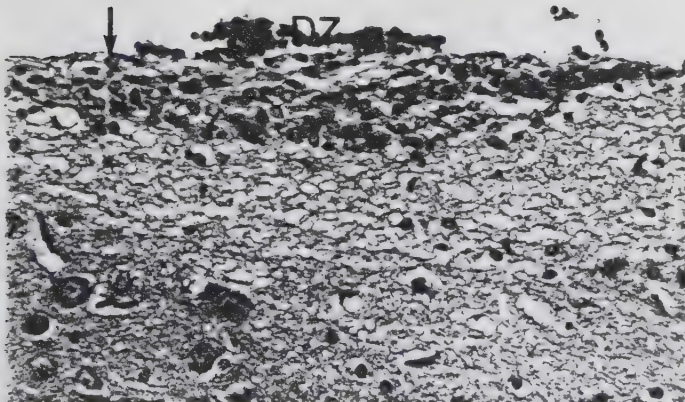


Abb.18: Rö.+ NX, Alter 12 Wo., dors. Vw. Kl. dunkle Zellen haben EZ-ähnliche Funktion. An den Rändern dieses Bezirkes sind die zellkernarmen Gliazellfortsätze noch zu erkennen. Färb.: HE, Vergr.: 560x

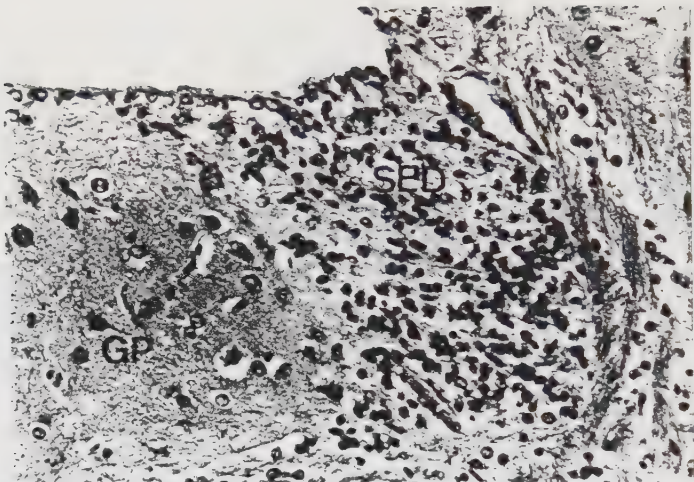


Abb.19: Rö + NX, Alter 12 Wo., dorsolat. Vw. Die SEZ flankiert ein heterotopes Kerngebiet, ist umfangsvermehrte und zeigt ein pleomorphes Zellbild mit unregelmäßiger Zelldichte und ohne klaren strukturellen Aufbau. Färb.: HE, Vergr.: 560x



Abb.20: Rö + NX, Alter 12 Wo., dorsolat. Vw. Ausschnitt einer subependymalen Dysplasie. Unschärfe Begrenzung zum tieferen Gehirnparenchym. Färb: He, Vergr.: 350x



Abb.21: Rö + NX, im moribunden Zustand seziert, Alter 14 Wo. Pinealom im Mittelhirnbereich mit lobulärer Ausbreitung und deutlicher zentraler Nekrose. Färb.: HE, Vergr.: 140x

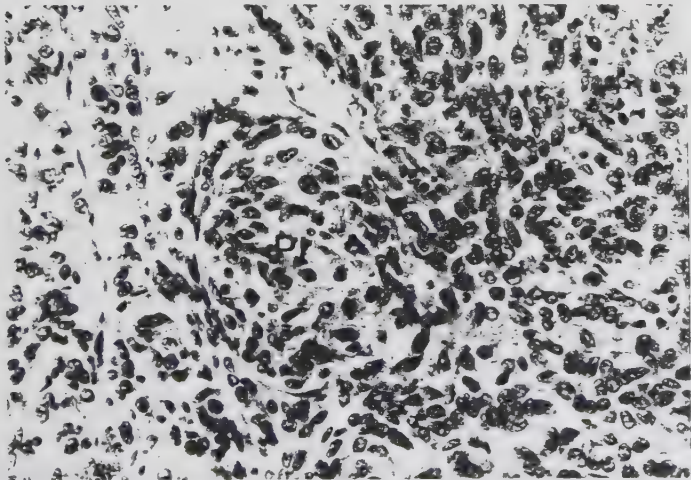


Abb.22: Pinealom wie in Abb. 21. Färb.: HE, Vergr.:875x

Zeichenerklärung

EZ = Ependymzone

SEZ = Subependymalzone

GP = Gehirnparenchym

EK = Ektopisches Kerngebiet

DZ = dunkle polygonale Zellen

HZ = helle Zellen

HP = Hyperplasie

N = Nekrose

PI = Pinealom

5. DISKUSSION

5.1. Durch Naltrexone bewirkte Wachstumssteigerung des Gehirns

Bei den Kontrolltieren gehen die Mitoserate und die 3-H-Thyminidwerte während der Untersuchungsperiode kontinuierlich zurück. Dagegen ist in der Behandlungsgruppe Kontrolle + Naltrexone vom 1.-28. d.p.n. ein starker Anstieg der 3-H-Thyminidineinbaurrate in der 6. Woche und eine maximale Mitoseaktivität in der 8. Woche zu beobachten.

Dies ist eine signifikante Zunahme der Zellvermehrung. Da die Pyknoserate während dieser Zeit gleichbleibend bei 0.5% liegt (Untersuchungen Schmah), bedeutet dies gleichzeitig eine effektive Nettozunahme der Zellanzahl. Die Markierungswerte sind bis zur 12. Woche relativ hoch, wohingegen die Mitosewerte nach der 8. Woche steil abfallen. Dies deutet auf eine Verlängerung der S-Phase hin (97,67,68), da nur in dieser das 3-H-Thyminidin eingebaut werden kann. Es läßt aber auch die Möglichkeit offen, daß ein Teil der stimulierten Zellen noch vor der Mitose degeneriert und in den Pyknosepool übergeht. Möglicherweise ist die Zellproduktion nach Naltrexonegabe ab der 10. Woche auf eine noch höhere Überproduktion angelegt als in dieser Zeit physiologischerweise schon stattfindet. Sie reguliert sich durch rasche Eliminierung der im Überschuß gebildeten Zellen.

Es stellt sich nun die Frage, welche Zellen am Wachstumsschub beteiligt sind. Proliferationsfähig sind vor allem die Gliazellen, sie tragen zur Vergrößerung der Zellanzahl bei, während die Neuronen durch die Naltrexonegabe zwar mehr Dendriten bilden, was aber keinen Niederschlag bei den 3-H-Thyminidin- und Mitosewerten findet (99,103).

Naltrexone bewirkt bei den Kontrollen eine Wachstumsstimulierung des Gehirns. Dies wird in dieser Arbeit deut-

lich durch die Gehirngewichte in der 6. Woche, hier vor allem bei den Weibchen, weiterhin bei dem Markierungsindex in der 6. Woche und beim Mitoseindex in der 8. Woche. Diese Befunde werden von anderen Autoren, die ebenfalls chronisch Naltrexone appliziert haben, bestätigt (134, 135, 99).

Dem Befund stehen aber die Ergebnisse anderer Autoren gegenüber, die nur kurzzeitige Naltrexoneauswirkungen beschrieben haben.

Vertes et al. (125) verabreichten einmalig Naloxone 2 mg/kg Körpergewicht am 11.d.p.n. Es kam zu einem Anstieg der biochemisch quantifizierten DNS, die aus dem Homogenat des Vorderhirns und des Hypothalamus gewonnen wurde (Szintillationsmeßmethode). Die Autoren konnten auf Grund dieses DNS-Wertes nicht zwischen Neuronen und Gliazellen differenzieren. Der Wert war nach 3 Std. maximal und fiel nach 6 - 9 Std. unter den Kontrollwert.

Zagon et al. (135) bestimmten die 3-H-Thymidineinbaurate im Kleinhirn mit Hilfe von Autoradiographien. Diese Methode hat den Vorteil, daß der 3-H-Thymidineinbau und damit die Zellproliferation topographisch zugeordnet werden kann. Es wurde einmalig Naltrexone 50 mg/kg Körpergewicht am 6.d.p.n. appliziert und der Einbau in die Zellen über einen Zeitraum von 12 Std. beobachtet. Die maximale 3-H-Thymidineinbaurate war in der 3. Std. vorhanden und nahm innerhalb des Versuchs bis auf Kontrollwerte ab.

Kornblum et al. (59) applizierte über 1, 2 oder 12 Tage Naltrexone in hoher Dosis und stellte jedoch keine Veränderung der 3-H-Thymidineinbaurate fest.

Die von Vertes et al. (125) und von Zagon (133) et al. beschriebenen Effekte basieren auf zu kurzen Untersuchungsintervallen, um sie mit der vorliegenden Arbeit vergleichen zu können. Aber dennoch lassen diese genannten Arbeiten vermuten, daß die Naltrexonewirkung nur kurzzeitig an der DNS-Synthese-Aktivität ablesbar ist. Es ist anzunehmen, daß diese Steigerung der DNS-Syntheserate direkt mit einer Erhöhung der Naltrexone-

spezifischen μ -Rezeptoren an der Zelloberfläche einhergeht. Letzteres ist tatsächlich nachweisbar (8,116,117), jedoch ist auch dieser Effekt nur von kurzer Dauer und pendelt sich nach ca. 7 Tagen nach dem Absetzen von Naltrexone wieder auf seinen Normwert ein (8,7).

Auf Grund dieser Fakten stellen sich die Fragen:

- a) Welche Zellpopulation ist für die Proliferation nach der 6.- 8. Woche verantwortlich?

Die Gliazellen sind die einzige Zellpopulation, die ihre mitotische Potenz zeitlebens behalten (33,112), aber physiologischerweise kommt es ab dem adulten Stadium zu einer Stagnation.

- b) Sind andere Langzeiteffekte festzustellen als solche der reparativen Zellvermehrung ?

Einige Autoren (23,110,124,132,64,77) weisen auf Langzeiteffekte im Verhalten und in der Reaktionsfähigkeit hin. Kornblum et al. und Sara et al. (59,97) vermuten, daß noch andere Neurotransmittersysteme an den Spätfolgen der Naltrexoneeinwirkungen beteiligt sind und das Wachstum in der frühen perinatalen Periode modulieren. Da bekannt ist, daß während der Gehirnentwicklung Interaktionen zwischen dem Opioidsystem und dem adrenergen System bestehen, sollen diese im folgenden behandelt werden.

5.1.1. Entwicklung der adrenergen Innervierung des Großhirns

Diese Entwicklung nimmt ihren Ausgang von den noradrenergen Neuronen des Locus coeruleus. Bei der Ratte teilen sich diese Neuronen intensiv vom 11.- 13.d.p.c.(64). Am Ende des 13.d.p.c. ist die Mitoseaktivität weitgehend abgeschlossen und es kommt dann zur Einsprossung der noradrenergen Fasern ins Großhirn (77,78).

Die einzelnen Gehirnschichten haben dabei eine unterschiedliche Anordnung der Nervenfasern:

Schicht 1: lange tangential verlaufende Fasern, die

sich im rechten Winkel kreuzen (Geflecht).
 Schicht 2 + 3: hauptsächlich transversal verlaufende Fasern mit einigen radial verlaufenden Anteilen, die die Schicht 1 oder 4 erreichen.
 Schicht 4 + 5: viele kurze diagonal verlaufende Axonsegmente.
 Schicht 6: tangential verlaufende Axone in antero-posteraler Richtung.

Einige noradrenerge Fasern der 1. und 6. Schicht durchbrechen die insgesamt vertikale Ausrichtung des Fasergewebes und ziehen tangential in rostrocaudaler Richtung. Der Locus coeruleus übernimmt die adrenerge Synchronisation des Großhirns. Erst nach Abschluß der Dendritenverzweigung werden die einzelnen Rezeptoren gebildet.

5.1.2. Entwicklung der adrenergen Rezeptoren auf den Gliazellen und ihre Reaktion auf Stimulierung

α - und β -adrenerge Rezeptoren wurden auf Gliazellen gefunden (102,39,72). Hansson et al. (38) stellten nach zwei Wochen in Gehirnzellkulturen von neugeborenen Ratten das Vorkommen von β -adrenergen Rezeptoren fest.

Van Calcar et al. (123), wiesen auf Kulturen von spätfetalen Mäusen α - und β -adrenerge Rezeptoren nach.

Im Großhirn sind vor allem β_1 -adrenerge Rezeptoren vorhanden (88). Ihre Anzahl steigt stark zwischen dem 10. und 21.d.p.n. an, bleibt bis zur 6. Woche konstant und fällt dann langsam und kontinuierlich auf den endgültigen Wert ab. Das Übergewicht der β_1 -Rezeptoren gegenüber den β_2 -Rezeptoren bleibt zeitlebens bestehen.

Die β -adrenergen Rezeptoren reagieren auf Agonisten, indem in Folge ihrer Reizung die Aktivität der intrazellulären Adenylatcyclase gesteigert wird. Diese wiederum bewirkt über die c-AMP-abhängigen Proteinkinasen eine Mobilisierung von Energiereserven, Veränderungen der Membranpermeabilität, Translation, Transkription und

Zellproliferation (69,31).

5.1.3. Beziehung zwischen noradrenerger Innervierung und dem Opioid-System

Noradrenalin bewirkt eine Steigerung des intrazellulären c-AMP. Dieser Anstieg wird durch Enkephaline signifikant gedämpft (95). Der Basislevel des c-AMP wird bei der Gegenregulation mit Enkephalinen nicht beeinflusst. Um solche Zellen nun vor akuter oder chronischer adrenerger Überreizung zu schützen, werden die betreffenden Rezeptoren von der Zelloberfläche entfernt, d.h. in die Zellmembran so aufgenommen, daß eine Reizung durch einen Agonisten nicht bzw. nur teilweise möglich wird. Die Zellen geraten dadurch in einen Zustand adrenerger Unempfindlichkeit (Tachyphylaxie) (92).

Morris et al. (76) gehen der Frage nach, warum die Neurotransmitter schon weitgehend im Fetus angelegt sind, darunter insbesondere die biogenen Amine, obwohl zu diesen Zeitpunkt diese Systeme nur begrenzt benötigt werden. Daraus entwickeln diese Autoren die Vorstellung, daß das noradrenerge System eine trophische Wirkung hat. Das β -adrenerge System stimuliert besonders das Wachstum während der Gehirnentwicklung, was aus dem starken Anstieg der Ornithindecaboxylase, dem Leitenzym für Zellwachstum und -differenzierung, zu ersehen ist. Besonders deutlich wird dies in den Gehirnregionen mit höchster Proliferationsrate (76).

Um ein Entgleisen der perinatalen Wachstumsvorgänge in die Hyperplasie bzw. Hypertrophie zu verhindern, liegt das β -Endorphin mit seiner acetylierten Form im Gleichgewicht. Während das β -Endorphin die Ornithindecaboxylase hemmt, führt das Acetyl- β -Endorphin, der Gegenspieler des β -Endorphins zu einem Anstieg dieses Zellenzyms und hat eine intensivierende Wirkung auf die Zellproliferation (76).

In diesen Zusammenspiel wäre die Wirkung von Naltrexone

erklärlich, wenn man annimmt, daß insbesondere die β -Endorphinwirkung (hemmender Einfluß auf die Zellproliferation) unterdrückt wird und sich dadurch die Wachstumsrate steigert (s.a. Gewichtstabelle).

Ein weiterer Punkt im Zusammenspiel der Opiode und des noradrenergen Systems ist die bimodale Wirkungsweise des Sympathikus (106,107), welcher die perinatale Zellproliferation des Gehirns und auch die von Herz, Niere und Lunge zu regulieren vermag. Dies geschieht in der Weise, daß bei niedrigem Sympathikustonius ein positiv tropher Effekt auf die Zellen in den unmittelbar postnatalen Entwicklungsabschnitten ausgeübt wird. Ungefähr in der dritten Lebenswoche kommt es zu einem physiologischen Anstieg des Sympathikustonius, der dann mit einem negativ trophen Effekt gekoppelt ist.

Durch chronische postnatale Naltrexonegabe kommt es zu einer Steigerung der μ -Rezeptorendichte auf den Gliazellen und zu einer erhöhten Opioidsensitivität. Diese Naltrexone bedingte μ -Rezeptorensteigerung verhindert durch noch nicht geklärte intrazelluläre Mechanismen jeden potentiellen Anstieg des c-AMP (92,95) und bewirkt indirekt einen niedrigen sympathischen Tonus, der während der gesamten Naltrexoneperiode bestehen bleibt. So ist zu erklären, daß der physiologische Anstieg des Sympathikustonius, der die langandauernde Zellproliferation "bremst", um die Naltrexonebehandlungsperiode verschoben wird. Diese Verlängerung des Reifungsprozesses verläuft in einem nahezu dem Normalzustand entsprechenden Zeitablauf und ist an der deutlichen Steigerung der Mitoserate in der SEZ im Gegensatz zu den Kontrollen zu erkennen.

Nach dem Absetzen von Naltrexone hält der proliferative Aufschwung bei den Kontrolltieren an, bis er sein Maximum in der 8. Woche erreicht. Der darauffolgende Abfall der Mitoserate in der 10. Woche um 60- 70% ist in Übereinstimmung mit den physiologischen Regulationsmechanismen.

So steigt vermutlich der Sympathikustonius langsam an und erreicht sein Maximum in der 8. Woche statt in der 3.

(106). Einen entsprechenden deutlichen noradrenergen Anstieg im Vorderhirn findet auch Sharma et al. (103) in seinen Untersuchungen am 10. Tag nach achttägiger Naltrexonegabe.

Ein weiterer beachtenswerter Faktor bei der perinatalen Wachstumsregulation des ZNS ist der Einfluß von Streß auf den Noradrenalin Spiegel gemessen im Locus coeruleus. Zwei Gruppen von Katzen wurde unter streßarmen und unter streßreichen Bedingungen Naltrexone appliziert. Erstere Gruppe zeigte keine Reaktionen auf die Behandlung, während es in letzterer, gestreßter Gruppe zu einem starken Anstieg des Noradrenalin Spiegels kam (1). Dieser Streß dürfte durchaus auch bei unserer täglichen Naltrexoneapplikation vorliegen. Der daraus resultierende hohe Noradrenalin Spiegel zieht durch die Chronizität der Behandlungen eine langandauernde Tachyphylaxie der adrenergen Rezeptoren nach sich. Besonders betroffen davon sind während der chronischen Naltrexoneapplikation die proliferierenden Gewebe der SEZ des Gehirns. Im Gegensatz zu der positiv trophen Wirkung auf das Gehirn ist das Körpergewicht der Naltrexone behandelten Tiere bis zur 6. Woche im Vergleich zu den Kontrollen vermindert. Der Anschluß an die Kontrollgewichte wird erst in der 10. Woche erreicht. Dieser Befund wird durch verschiedene Autoren bestätigt (40,84,55,3,4), die eine verminderte Futteraufnahme 14 Tage lang nach der Naltrexonebehandlung feststellten. Im anschließenden Wachstumsschub konnte die Differenz ausgeglichen werden.

Das histologische Bild unserer Befunde in den Kontrollen + Naltrexone zeigt keine deutlichen Veränderungen, die den quantitativen Befunden bei der Bestimmung der Proliferationsaktivität entsprechen würden. Das bedeutet, daß die dem Proliferationsschub zugrunde liegenden Vorgänge nicht zur Betonung eines bestimmten Zelltyps innerhalb der EZ und der SEZ führen. Andere Befunde zeigen sich bei den Tieren, die röntgenbestrahlt und zum Teil auch mit Naltrexone behandelt worden sind.

5.2. Veränderungen der telencephalen SEZ nach Röntgenbestrahlung

Infolge der pränatalen Röntgenbestrahlung ist in erster Linie eine allgemeine Mikrocephalie festzustellen, sowie eine Hypoplasie kortikaler Strukturen im Vorderhirn (vergl. Gehirngewicht mit den Kontrollen). Nach 6 Wochen kommt es zum Angleichen der Gehirn- und Körpergewichte an die Kontrollen (66,94,21,114).

Die Markierungswerte spiegeln ein zyclisches Reparationsgeschehen wieder, das sich im Abfall der Werte in der 8. und 12. Woche und im deutlichen Anstieg in der 10. Woche ausdrückt. Diese Befunde sind vergleichbar mit den periodischen Kompensationsreaktionen des postnatalen Gehirns nach pränataler Röntgenbestrahlung bei der Maus (58). Diese Wachstumsreaktionen werden als ein übersteuerter, unkoordinierter Erholungsvorgang angesehen, bei dem die für frühe postnatale Entwicklungsstadien spezifischen Bildungen von Vorstufen für Mikroneurone und Gliazellen stimuliert werden. Es handelt sich also um einen biphasischen Schub, der möglicherweise mit dem in dieser Periode stattgefundenen Beginn und dem Ende der verspätet einsetzenden Myelinisierungsperiode zusammenfällt. In dieser Periode ist die Gliogenese am stärksten (33,112). In den hier untersuchten Ratten tritt dieser unkoordinierte Erholungsvorgang 4 Wochen später auf als bei den von Konermann et al. untersuchten Mäusen (58).

Anders verhält es sich bei der Mitoserate, die ab der 6. Woche und dort besonders drastisch, bis zur 12. Woche deutlich erhöht ist. Dieser Befund deutet auf einen kurzen Generationszyklus mit einer schnellen DNS-Synthesephase hin. Diese erhöhten Mitosewerte finden nicht ihr Äquivalent im histologischen Bild.

Um die Dynamik der pathophysiologischen Mechanismen der pränatal röntgenbestrahlten Gehirne zu erfassen, ist es notwendig, zuerst auf andere Studien mit anderen ver-

gleichbaren embryotoxischen Agentien bei Ratten zurückzugreifen. Es handelt sich dabei um die Wirkstoffe Methylazoxymethanol (MAM) und Cytosinarabinosid (AraC). Die Nachkommen von Ratten, die am 15.d.p.c. mit MAM behandelt worden waren, zeigten eine deutliche Mikroencephalie mit Hypoplasie des Cortex, Hippocampus und Striatum (28). Die daraus entstehende Hypozellularität setzt sich zu gleichen Teilen aus zerstörten Neuronen und Gliazellen zusammen. Die noradrenergen Nervenfasern bleiben jedoch erhalten, so daß ein beträchtliches relatives Übergewicht der letzteren gegenüber der verminderten Glia- und Neuronenzahl besteht (48,50,51). Dieser Umstand führt biochemisch zu einem erhöhten Noradrenalin Spiegel (51,13), und da diese Erhöhung chronisch ist, kommt es zu einer lang andauernden β -Rezeptorenreduktion (Tachyphylaxie). Trotz der damit begünstigten Fähigkeit zur lang andauernden Zellproliferation können die Schäden nicht mehr vollständig kompensiert werden.

Die pränatale Gabe von AraC führt zu ähnlichen Befunden hinsichtlich der Mikroencephalie (72). Auch hier kommt es zu einer relativen Unversehrtheit der noradrenergen Fasern (72).

Die Befunde am Großhirn, die nach AraC und MAM gefunden wurden, sind mikroskopisch sehr ähnlich denen nach pränataler Strahleneinwirkung. Wir finden in allen drei Behandlungen sowohl eine Verringerung der Zelldichte in einem mikrocephalen Cortex, als auch eine weitgehende Erhaltung der Gliazellfortsätze. Daher ist die in Analogie erstellte Annahme durchaus gerechtfertigt, daß nach einer pränatalen Strahleneinwirkung am 15. Gestationstag wie in den vorliegenden Versuchen, eine relative Wirkungsverstärkung der noradrenergen Fasern im Cortex erfolgt. Dies wird auch durch folgende Befunde anderer Autoren bestätigt.

Deroo et al. (26) bestrahlten Ratten am 12. oder 15. Gestationstag mit 1 Gy und stellten einen Anstieg der biogenen Amine und der noradrenergen Fasern fest.

Bei Minnemann et al. (74) wurden Ratten neonatal mit 2 - 2.5 Gy bestrahlt. Im Alter von 6 Wochen war im Kleinhirn die Gesamtdichte der β -Rezeptoren unverändert, wobei sich die $\beta 2$ -Rezeptoren zugunsten der $\beta 1$ -Rezeptoren reduzierten. Die Autoren glauben, daß die Verschiebung zugunsten der $\beta 1$ -Rezeptorenanteile auf einer selektiven Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Interneurone, welches die hauptsächlichlichen Träger der $\beta 2$ -Rezeptoren sind, beruht. Eine entsprechende Reduktion der β -Rezeptoren, auch in den hier untersuchten Gehirnen läßt, nach pränataler Röntgenbestrahlung, in Analogie zu den oben zitierten Befunden (74,26) die Annahme zu, daß in Folge der Röntgenbestrahlung zumindest ein Teil der Reduktion der β -Rezeptoren auch durch die Gegenregulation in Beantwortung des gesteigerten adrenergen Tonus zustande kommt.

Obwohl es hierfür keinen direkten Beweis gibt, spricht ein weiterer biochemischer Befund nach perinataler Röntgenbestrahlung dafür (27). Diese Autoren berichteten nach einer Exposition von Ratten mit Strahlendosen zwischen 2.0 und 2.5 Gy von einer signifikanten Abnahme der c-AMP-abhängigen Proteinkinase in den Gehirnhomogenaten nach 4 Wochen.

So kann zu diesen Punkt zusammenfassend gesagt werden, daß die strahlenbedingte gesteigerte Wirksamkeit des noradrenergen Systems im Gehirn, einhergehend mit Hypozellularität von Gliazellen und Neuronen, zum Schutz vor Überreizung der nicht zerstörten adrenergen Fasern, zur Tachyphylaxie der β -adrenergen Rezeptoren führt. Diese β -adrenerge "down regulation" begünstigt wahrscheinlich die langandauernde Zellproliferation (106), so daß es zu den oben diskutierten Proliferationsschüben kommt. In der Postnatalperiode sind vermutlich mehrere solcher Kompensationsschübe vorhanden, die schließlich zu einem Wachstum führen, daß ab der 3. Woche nahezu die Kontrollwerte bei den Körper- und Gehirngewichten erreicht werden.

Im histologischen Bild wird die SEZ durch die Röntgen-

strahlen unterschiedlich stark geschädigt (62). Im dorsalen Ventrikelbereich kommt es zu starken Ependymschäden und nahezu zum Verschwinden der SEZ. Lateral ist der Aufbau der EZ und der SEZ fast unverändert, so daß als Ergebnis festzuhalten ist, daß die postnatale Wachstumsdynamik des Vorderhirns nach pränataler Röntgenbestrahlung ohne histologische Besonderheiten erfolgt, solange der Aufbau in EZ und SEZ intakt ist.

5.3. Tumorpromovierender Effekt von Naltrexone nach pränataler Röntgenbestrahlung

Ein völlig anderes Bild ergibt jedoch die Analyse der Befunde bei Röntgenbestrahlung + Naltrexone. Hier liegt der Hauptgipfel der Proliferation in der 4. Woche und eine gewisse Ausdehnung der erhöhten Mitosewerte erfolgt bis zur 8. Woche.

Der Wachstumsschub setzt hier früher ein als bei den nur röntgenbestrahlten Tieren, da hier vermutlich noch die Streßsituation der Naltrexoneapplikation hinzu kommt, die bekanntlich zu einer stärkeren Adrenalinausschüttung führt (1).

Auf eine Phase relativ niedriger 3-H-Thymidineinbauwerte in der 6. bis 8. Woche folgt ein zweiter sehr deutlicher Gipfel in der 10. Woche, ohne jedoch von einem Aufschwung der Mitoseaktivität begleitet zu sein. Eine ähnliche Diskrepanz haben wir bereits bei den Kontrollen + Naltrexone kennengelernt und nehmen in Analogie zu diesen Ergebnissen an, daß auch in dieser Gruppe (Rö + Nx) eine sehr stark gesteigerte Elimination bereits markierter DNS in Form eines Interphase-Zelltodes stattfindet (46).

Der in der 4. Woche beobachtete erste Kompensationswachstumsschub bei Rö + Nx ist zunächst nur an den erhöhten 3-H-Thymidin- und Mitosewerten zu erkennen. Er wird auch bis zur 6. Woche in einem sehr markanten histopathologischen Äquivalent sichtbar, nämlich in der

Proliferation der kleinen polygonalen Zellen mit den dunklen Kernen. Dies findet jedoch nur im unmittelbaren Kontakt der SEZ mit einer relativ unveränderten, geschlossenen EZ-Zone statt.

Es stellt sich jetzt die Frage, ob diese kleine polygonale Zellpopulation zur Regenerierung des Ependyms beiträgt, oder ob sie durch die Proliferation des Ependyms zustande kommt. Dies kann nicht entschieden werden, weil die Durchdringung der EZ mit diesen Zellen teilweise sehr stark und intensiv ist. Wichtig für diese Zellpopulation ist jedoch die Präsenz eines intakten Ependyms. Da bei alleiniger Röntgenbestrahlung in keinem Fall solche zirkumskripten Prolifereate zu beobachten waren, stellt sich die Frage nach einem spezifischen Naltrexoneffekt.

Es ist nicht wahrscheinlich, daß allein die durch Naltrexone gesteigerte noradrenerge Wirksamkeit zu dieser SEZ-Proliferation führt, aber es kann auch nicht ausgeschlossen werden. Die strahlenbedingte noradrenerge Veränderung plus die Naltrexone-bedingte Stimulierung der Zellproliferation würde dann also synergistisch zu diesem speziellen histologischen Befund zusammenwirken. Die signifikant höhere Mitoserate wäre auch ein deutlicher Ausdruck für die Stimulierung der Zellteilung. Diese hyperplastischen Zellvermehrungen, die unmittelbar subependymal vorliegen, können als eine orthotope Zellproliferation aufgefasst werden, d.h. sie proliferieren an ihren regulären Ort.

Bei diesen Tieren aus der Gruppe Rö + Nx kommt es noch zu einem weiteren interessanten Befund ab der 10.- 12. Woche. Die Bereiche der SEZ, welche in der Peripherie die ektopen Kerngebiete flankieren und in tiefere Schichten der subventrilulären weißen Substanz verlagert werden, sind ohne Kontakt zu den spärlichen Ependymresten. Diese sogenannten heterotopen SEZ-Gebiete zeigen in der Histologie eine anhaltende Proliferationstendenz mit deutlich dysplastischen Erscheinungsbild. Die erhöhte Proliferationstendenz ist in Kontinuität zu der be-

merkwürdig starken Reparationsleistung solcher Heterotopien während der intrauterinen Entwicklung zu sehen (99). Die Tatsache der dysplastischen Erscheinungen innerhalb dieser Regionen verdient besondere Beachtung. Dabei ist der Gesichtspunkt eines möglichen Übergangs von der präneoplastischen Dysplasie zur Neoplasie besonders interessant, da dies in der Literatur der strahlenbedingten Langzeiteffekte am ZNS bisher nicht beschrieben wurde. Weiterhin erhält der Befund der dysplastischen Gehirnveränderung durch das gleichzeitige Auftreten eines Gehirntumors in derselben Versuchsgruppe eine besondere Bedeutung.

Das Auftreten strahleninduzierter Gliome ist bei Mensch und Tier sehr selten und wurde bei Strahlendosen >1 Gy bisher nur in 31 Fällen beobachtet (45). Die anderen Tumoren, die in diesen Fallbeschreibungen auch dem ZNS zugerechnet werden, sind Meningiome und Meningosarkome (98,109,2). Eine bedeutende Untersuchung erstellten in diesem Zusammenhang Knowles et al. (56). Die Autoren beschrieben das Auftreten von 7 ZNS-Tumoren bei HMT-Ratten innerhalb eines Kollektivs von 90 Tieren. Diese wurden mit Röntgendosen zwischen 1.0 und 2.0 Gy bestrahlt. Alle Kontrolltiere erkrankten nicht an ZNS-Tumoren, bis über das Alter von 2 Jahren hinaus. Die Arbeit zeigt den Zusammenhang zwischen Bestrahlung und Gliomentstehung im ZNS auf, so daß die radiogene Induktion des hier beschriebenen Einzelfalles durchaus plausibel ist. Diese Interpretation wird unterstützt durch 7 weitere Fälle in denen Dysplasien mit Verdacht auf Praeneoplasie im Großhirn festgestellt wurden.

Zweitens muß zwar mit dem Auftreten eines Spontanfalls eines Gehirntumors in der hier untersuchten Rattenpopulation gerechnet werden, aber das relativ junge Alter des erkrankten Tieres (14 Wo.) ist überraschend. Die Literatur der Spontantumoren bei den verschiedenen Rattenstämmen nennt eine untere Altersgrenze für das Auftreten von Gliomen von 43 Wochen (70), 28 Wochen (63), sowie 590 Tage (113). Deerberg et al. (24) beschreiben

das Auftreten von ZNS-Tumoren bei der Wistarratte erst ab dem 2. Lebensjahr. In ähnlicher Weise wird auch das Vorkommen von Epiphysentumoren der Ratten ebenfalls etwa ab dem 2. Lebensjahr beschrieben (18). Auch die oben erwähnten ZNS-Tumoren nach neonataler Bestrahlung (56) traten erst ab 335 Tagen auf.

In diesem Zusammenhang stellt sich uns also abschließend die Frage, ob nicht Naltrexone eine zumindest tumorpromovierende Wirkung hinsichtlich der Verkürzung der Latenzzeit ausübt, wobei die Röntgenbestrahlung als ein Initialereignis - wenn auch mit sehr geringer Penetranz - zu erachten wäre. Die tumorinitiierende und auch die promovierende Potenz von Röntgenstrahlen während der Perinatalperiode ist zwar hinreichend bekannt, jedoch meist nur in den nichtneuronalen Geweben (130). Eine wichtige Ausnahme ist jedoch die Beschreibung von ZNS-Tumoren durch Knowls (56) nach neonataler Bestrahlung im dorsalen Bereich mit 1 bis 2 Gy. Mit vorliegender Arbeit konnte ein zweites Mal auf die schwache tumorinduzierende Wirkung von Röntgenbestrahlung am pränatalen ZNS hingewiesen werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit steht die Frage im Mittelpunkt, ob es nach Röntgenbestrahlung während der Fetalentwicklung zu einer postnatalen Modifikation der erzeugten Läsionen durch einen Opioidantagonisten (Naltrexone) kommt.

In dem Versuch wurden Ratten am 14. Gestationstag einer Röntgenbestrahlung mit 1 Gy ausgesetzt. Deren Nachkommen wurden in die Gruppen Kontrolle, Kontrolle + Naltrexone, Röntgenbestrahlung und Röntgenbestrahlung + Naltrexone eingeteilt. Naltrexone wurde täglich vom 1.- 28. Lebenstag in einer Dosis von 50 mg/kg KGW subkutan appliziert. Zu den Sektionsterminen in der 4., 6., 8., 10. und 12. Woche erhielt ein Teil der Tiere eine Injektion von 3-H-Thymidin. Ein Teil der Gehirnschnitte aus dem Vorderhirnbereich in Ventrikelhöhe wurde vor der Haematoxylin-Eosin Färbung autoradiographisch aufbereitet.

Die Ergebnisse in den Kontrollgruppen zeigten einen kontinuierlichen Abfall der Mitoserate und der Markierungswerte.

Das histologische Bild der Gehirnschnitte der nur mit Naltrexone behandelten Ratten entsprach weitestgehend denen der Kontrollgruppe, während die Mitosewerte dieser Tiere in der 8. Woche deutlich anstiegen.

Die pränatal bestrahlten Tiere zeigten 3 verschiedene histologische Schädigungstypen des Vorderhirns.

- 1) Tiere mit Resten von Ependym im Dach des Telencephalon und ödematös aufgelockertem Parenchym

Meist lag gleichzeitig ein Hydrocephalus internus vor.

Unter Naltrexoneeinfluß bildeten sich multiple Knötchen in der subependymalen Zone, mit intensivem Kontakt zum darüberliegenden Ependym.

- 2) Tiere mit zellkernarmen Arealen bestehend aus Gliafortsätzen als Abgrenzung des Ventrikellumens bei gleichzeitigem vollständigem Fehlen des Ependyms.

Unter Naltrexoneeinfluß bilden sich kleine, dunkle Zellen, welche dieser Begrenzung auflagen.

- 3) Bevorzugtes Auftreten dysgenetischer Symptome mit

ektopischen neuronalen Kerngebieten. Das Ependym fehlte weitgehend, Reste der SEZ flankierten die Ektopien.

Letztere Zellpopulation zeigte unter Naltrexoneinfluß eine intensive Proliferation. Dabei entstanden Gebiete mit einer komplexen Struktur ohne einheitliches Zellbild und ohne deutliche Abgrenzung zur Umgebung. Dieser Befund ergab sich in 7 von 10 untersuchten Großhirnen und ist als Dysplasie mit Verdacht auf neoplastische Potenz aufzufassen. Es konnte also dargestellt werden, daß die Opioidrezeptorenblockade durch Naltrexone ein promovierendes Ereignis ist, welches die Bildung dysplastischer Abschnitte der germinativen Zone fördert, sowie in einem Einzelfall auch möglicherweise das Entstehen eines Gehirntumors bei einem juvenilen Tier begünstigt.

7. SUMMARY

"The growth pattern of the germinative zone of the telencephalon subsequent to prenatal X-irradiation and postnatal opioid receptor blockade in rats"

The main question of this thesis was, whether blockade of opioid receptors during postnatal life leads to a modification of brain tissue repair after prenatal damage by X-irradiation. Female rats on the 14 th day of gestation were exposed to X-rays with a single dosis of 1 Gy. The offspring were divided into four groups: control, control + naltrexone, X-irradiation and X-irradiation + naltrexone. Naltrexone was applicated s.c. from the 1th - 28th postnatal day at a daily dose of 50 mg/kg. For histological examination in the 4th, 6th, 8th, 10th and 12th week a number of animals was taken from each group and dissected. 3-H-thymidine was applicated to a part of these rats. Coronal slices of the forebrain including the ventricle system were prepared and stained. 3-H-thymidine slices were processed autoradiographically and stained afterwards.

The control group showed a continous decrease of the mitotic and the 3-H-thymidine values. Between this group and the naltrexone treated controls was no significant histological difference. However we found a significant rise of the mitotic activity in the subependymal layer (SEL) up to the 8th week.

The prenatally X-irradiated animals showed three different lesion types:

- 1) Under chronic influence of naltrexone prominent nodules of the SEL of the dorsolateral districts were registered.

In most of these cases was seen a hydrocephalus internus.

- 2) Animals without any ependyme, but showing demarcation to the ventricular lumen by a layer mainly composed of glial cell cytoplasmatic protusions.

Under the influence of naltrexone small dark cells mi-

grated over these glial demarcation zone, resembling to ependymal cells.

- 3) Appearance of a dysgenetic lesion pattern with only rests of SEL cells nearby ectopic cell nodes.

These rests revealed a remarkable growth after naltrexone treatment without any clear demarcation and without an unique cell density and morphology. These dysplastic SEL areas with the potentiality for neoplastic transformation were observed in 7 of 10 brains.

Our experiment shows, that the opioid antagonist naltrexone has a tumorpromoting potency to some parts of the germinative layer and in one case it may have supported the development of a brain tumor in an juvenile animal.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abercrombie D.E., und Jacobs B.L.: Systemic naloxon administration potentiates locus coeruleus noradrenergic neuronal activity under stressful, but not non-stressful conditions. *Brain Res.* 441, 362-366, 1988
2. Anderson J.R., und Treib C. S.: Radiation-induced intracranial neoplasms. *Cancer* 53, 426-429, 1984
3. Aroyewun O. und Barr G. A.: The effects of opiate antagonists on milk intake of preweanling rats. *Neuropharmacology* 21, 757-762, 1982
4. Aroyewun O.O. und Barr G.A.: Effects of chronic antenatal and postnatal administration of narcotics on naloxon-induced anorexia in preweanling rats. *Neuropharmacology* 22, 329-336, 1983
5. Auguy-Valette A, Cros J. und Partennier G.: Morphine analgesia and cerebral opiate receptors: a developmental study. *Brit. J. Pharmacol.* 63, 303-308, 1978
6. Bardo M.T., Bhatnagar R.K. und Gebhart G.F.: Opiate receptor ontogeny and morphine-induced effects: influence of chronic footshock stress in preweanling rats. *Dev. Brain. Res.* 1, 487-495, 1981
7. Bardo M.T., Bhatnagar R.K. und Gebhart G.F.: Differential effects of chronic morphine and naloxone on opiate receptors, monoamines and morphine-induced behaviors in preweanling rats.: *Dev. Brain. Res.* 4, 139-147, 1982
8. Bardo M.T., Bhatnagar R.K. und Gebhart G.F.: Age-related differences in the effect of chronic administration of naloxone on opiate binding in rat brain. *Neuropharm.* 22, 453-461, 1983
9. Bartolome J.V., Bartolome M.B., Daltner L.A., Evans C.J., Barchas J.D., Kuhn C.M. und Schauberg S.M.: Effects of β -endorphin on ornithine decarboxylase in tissues of developing rats: potential role for this endogenous neuropeptides in the modulation of tissue growth. *Life Sci.* 38, 2355-2362, 1986
10. Bartolome J.V., Bartolome M.B., Harris E.B. und Schauberg S.M.: N-acetyl- β -endorphin stimulates ornithine decarboxylase activity in preweanling rat pup: opioid- and non opioid-mediated mechanisms. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 240, 895-899, 1987
11. Bayon A., Shoemaker W., Bloom F., Mauss A. und Guilleman R.: Perinatal development of the endorphin- and enkephalin-containing systems in the rat brain. *Brain Res.* 179, 93-101, 1979

12. Beaudoin A.R.: Embryology and teratology, in Baker J.H., Lindsey J.R. und Weisbroth S.H.(eds): The laboratory rat (Voll.II). Academic Press: New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco, 75 - 101, 1980
13. Beaulieu M. und Coyle J.T.: Fetally-induced noradrenergic hyperinnervation of cerebral cortex results in persistent downregulation of β -receptors. Dev. Brain. Res. 4, 491-494, 1982
14. Berry M. und Rogers A.W.: The migration of neuroblasts in the developing cerebral cortex. J. Anat. 99, 691-709, 1965
15. Biesold D. und Matthies H.: Neurobiologie, im Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1977
16. Bowen W., Gentleman S., Herkenham M. und Pert C.: Interconvertible μ - and δ - forms of the opiate receptor in rat striatal patches. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 4818-4822, 1981
17. Bruni J.E., Del Bingo M.R. und Clattenburg R.E.: Ependyma: normal and pathological. A review of literature. Brain Res. Rev. 9, 1-19, 1985
18. Burek J.D., van Zwieten M.J. und Solleveld H.A.: Rat pinealoma, in Endocrine System (eds: T.C. Jones, U. Mohn, R.D. Hant) 350-354, Monographs on Path. of Lab. Animals, Springer-Verlag, Berlin, 1983
19. Coyle J.T. und Pert C. B.: Ontogenetic development of 3-H-naloxone binding in rat brain. Neuropharmacology 15, 555-560, 1976
20. D'Agostino A. N. und Brizzee K.R.: Radiation necrosis and repair in rat fetal cerebral hemisphere. Arch. Neurol. 15, 615-628, 1966
21. D'Amato C. J.: Regeneration and recovery in fetal nervous system after irradiation injury. Experim. Neurol. 76, 457-467, 1982
22. Das G.D.: Gliogenesis and ependymogenesis during embryonic development of the rat. J. Neurol. Sci. 43, 193-204, 1979
23. Davis W.M. und Levi C.H.: Prenatal morphine effects on survival and behavior of rat offspring. Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol. 3, 1972
24. Deerberg F., Rapp K.G., Pittermann W. und Rehm S.: Zum Tumorspektrum der Han: Wist-Ratte. Z. Versuchstierk. 22, 267-280, 1980

25. Dekaban A.S.: Effects of X-radiation on mouse fetus during gestation: Emphasis of distribution of central nervous system lesions. *J. Nucl. Med.* 10, 68-77, 1969
26. Deroo J., Gerber G.B. und Maes J.: Biogenic amines, amino acids and regional blood flow in rat brain after prenatal irradiation, in H.Kriegel et al. (eds), *Radiation Risks of the Developing Nervous System*, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York, 1986
27. Dolphin A.C., Detre J.A., Schlichter D.J., Nairn A.C., Yeh H.H., Woodward D.J. und Greengard P.: Cyclic nucleotide-depend protein kinases and some major substrates in the rat cerebellum after neonatal X- radiation. *J. of Neurochem.*, 57-62, 1983
28. Eriksdotter-Nilsson M., Jonsson G., Dahl D. und Bjorklund H.: Astroglial development in microencephalic rat brain after fetal methylazoxymethanol treatment. *Int. J. Develop. Neurosci.* 4, 353-362, 1986
29. Ferrer I., Xumetra A. und Santamaria J.: Cerebral malformation induced by prenatal X-radiation: an autoradiographic and Golgi study. *J.Anat.* 138, 81-93, 1984
30. Freeman G.B.: Surface modifications of neural epithelial cells during formation of the neural tube in the rat embryo. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 28, 437-448, 1972
31. Gancedo J.M., Mazon M.J. und Eraso P.: Biological roles of c-AMP: Similarities and differences between organisms. Elsevier Sci.Publischers B.V., Amsterdam May 1985
32. Geelen J.A.G. und Langman J.: Closure of neural tube in the cephalic region of the mouse embryo. *Anat. Rec.* 189, 625-640, 1977
33. Gilmore S.A.: Neuroglial population in the spinal white matter of neonatal and early postnatal rats: An autoradiographic study of number of neuroglia and changes in their proliferative activity. *Anat. Rec.* 171, 283-292, 1971
34. Goerttler K.: Der paenatale Organismus als reagierendes Subjekt. *Bull. Schweiz. Akad. Med.Wiss.* 20, 336-359, 1964
35. Griffiths T.D. und Tolmach L.J.: Letal response of HeLa cells to X-radiation in the later part of the generation cycle. *Biophys. J.* 16, 303-318, 1976

36. Hammer R.P.: Ontogeny of opiate receptors in the rat medial preoptic area: Critical periods in regional development. *Int. J. Develop. Neurosci.* 3, 541-548, 1985
37. Handelsmann G.E. und Quirian R.: Neonatal exposure to morphine increases μ -opiate binding in the adult. *Eur. J. Pharmacol.* 94, 357-358, 1983
38. Hansson E.: Primary cultures from defined brain areas; effects of feeding time on the development of β -adrenergic- and dopamine- stimulated c-AMP-activity during cultivation. *Dev. Brain Res.* 21, 187-192, 1985
39. Harden T.K. und Mc Carthy K.D.: Identification of the β -adrenergic receptor subtype on astroglia purified from rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 222, 600-605, 1982
40. Harry G.J. und Rosecrans J.A.: Behavioral effects of perinatal naltrexone exposure: A preliminary investigation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 11, 19-22, 1979
41. Hawkins R.B., Tolmach L.J. und Griffiths T. D.: DNA synthesis in generation 1 in X-irradiated HeLa cells. *Radiat. Res.* 85, 85-98, 1981
42. Haynes L. Smyth D. und Zakarian S.: Immunocytochemical localisation of β -endorphin (lipotropin c-fragment) in developing rat spinal cord and hypothalamus. *Brain Res.* 232, 115-128, 1981
43. Hetta J. und Terenius L.: Prenatal naloxone affects survival and morphine sensitivity of rat offspring. *Neurosci. Lett.* 16, 323-327, 1980
44. Hopwood L.E. und Tolmach L.J.: Manifestation of damage from ionizing radiation in mamalian cells in the post-irradiation generations. *Advances in Radiation Biologic* 8, 317-362, 1979
45. Huang C., Chiou W. und Ho D.: Oligodendroglioma occurring after radiation therapy for pituitary adenoma. *J. Neurosurg. Psychiat.* 50, 1619-1624, 1987
46. Hyndman A.G. und Zamenhof S.: Cell proliferation and cell death in the cerebral hemispheres of developing chick embryos. *Dev. Neurosci.* 1, 216-225, 1978
47. Johannesson T. und Becker B.A.: The effects of maternally administered morphine on rat foetal development and resultant tolerance to the analgesic action of morphine. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 31, 305-313, 1972

48. Johannesson T. und Becker B.A.: Morphine analgesia in rats at various ages. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 33, 429-441, 1973
49. Johnston M.V.: Methylazoxymethanol treatment of fetal rats results in abnormally dense noradrenergic innervation of neocortex. *Science* 203, 369-372, 1979
50. Johnston M.V. und Coyle J.T.: Ontogeny of neurochemical markers for noradrenergic, GABAergic and cholinergic neurons in neocortex lesioned with methylazoxymethanol acetate. *J. Neurochem.* 34, 1429-1441, 1980
51. Jonsson G. und Hallman H.: Effects of prenatal methylazoxymethanol treatment on the development of central monoamine neurones. *Dev. Brain Res.* 2, 513-530, 1982
52. Kaplan M.S. und Bell D.H.: Mitotic neuroblasts in the 9-day-old and 11-month-old rodent hippocampus. *J. Neurosci.* 4, 1429-1441, 1984
53. Kent J., Pert C. und Herkenheim M.: Ontogeny of opiate-receptors in rat forebrain: visualisation by in vitro autoradiography. *Dev. Brain Res.* 2, 487-504, 1982
54. Kirby M.L.: Changes in 3-H-naloxone binding in spinal cord of rats treated prenatally with morphine. *Neuropharmacol.* 22, 303-307, 1983
55. Kirkham T.C. und Blundell J.E.: Effects of naloxone and naltrexone on meal patterns of freely-feeding rats. *Pharmacol. Biochem. Behavior* 26, 515-520, 1987
56. Knowles J.F.: Radiation-induced nervous system tumors in the rat. *Int. J. Rad. Biol.* 41, 79-84, 1982
57. König N., Valat J., Fulcrand J. und Marty R.: The time of origin of Cajal-Retzius cells in the rat temporal cortex. An autoradiographic study. *Neurosci. Lett.* 4, 21-26, 1977
58. Konermann G.: Periodische Kompensationsreaktionen im Verlaufe des postnatalen Wachstums von dem Gehirn der Maus nach fraktionierter Röntgenbestrahlung während der Embryogenese. *Strahlentherapie* 153, 399-414, 1977
59. Kornblum H.J., Hurlbut D.E. und Leslie F.M.: Postnatal development of multiple opioid receptors in rat brain. *Dev. Brain Res.* 37, 21-41, 1987
60. Kornblum H.J., Loughlin S.E. und Leslie F.M.: Effects of morphine on DNA synthesis in neonatal rat brain. *Dev. Brain Res.* 31, 45-52, 1987

61. Korr G.: Proliferation of different cell types in the brain. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* 61, 1-72, 1980
62. Kriegel H., Schmahl W., Kistner G. und Stieve F.E.: *Developmental Effects of Prenatal Irradiation.* G. Fischer, Stuttgart 1982
63. Krinke G., Naylor D.C., Schmid S., Fröhlich E. und Schnider K.: The incidence of naturally occurring primary brain tumors in the laboratory rat. *J. Comp.Path.* 95, 1985
64. Lauder J.M. und Bloom F.E.: Ontogeny of monoamine neurons in the locus coeruleus raphe nuclei and substantia nigra of the rat. I. Cell differentiation. *J. Com. Neurol.* 155, 469-482, 1974
65. Leslie F.M., Tso S. und Hurlbut D.E.: Differential appearance of opiate receptor subtypes in neonatal rat brain. *Life Sci* 31, 1393-1396, 1982
66. Lewis P.D.: Radiosensitivity of the subependymal cell layer of the adult rat brain. *Exp. Neurol.* 20, 208-214, 1968
67. Lewis P.D., Patel A.J., Johnson A.L. und Balazs R.: Effect of thyroid deficiency on cell acquisition in the postnatal rat brain: A quantitative histological study. *Brain Res.* 104, 49-62, 1976
68. Lewis P.D., Patel A.J., Bendek G. und Balazs R.: Effect of reserpine on cell proliferation in the developing rat brain. A quantitative histological study. *Brain Res.* 129, 299-308, 1977
69. Lockerbie R.O., Herve D., Blanc G., Tassin J. und Glowinsky J.: Isolated neuronal growth cones from developing rat forebrain possess adenylate cyclase activity which can be augmented by various receptor agonists. *Dev. Brain Res.* 38, 19-25, 1988
70. Loughlin S.E., Massamiri T.R., Kornblum H.J. und Leslie F.M.: Postnatal development of opioid systems in rat brain. *Neuropeptides.* 5, 469-472, 1985
71. Maekawa A., Onodera H., Tanigawa H., Furuta K., Takahashi M., Kurukawa Y., Kokubo T., Ogiu T., Uchida O., Kobayashi K. und Hayashi Y.: Spontaneous tumors of the nervous system and associated organs and/or tissues in rats. *Gann.* 75, 784-791, 1984
72. Matsutani T., Nagayoshi M., Tamaru M. und Tsukada Y.: Elevated monoamine levels in cerebral hemispheres of microencephalic rats treated prenatally with methylazoxymethanol or cytosine arabinoside. *J. Neurochem.* 34, 950-956, 1980

73. Mc Carthy K.D. and de Vellis J.: α -adrenergic receptor modulation of β -adrenergic adenosine and prostaglandin D1 increased 3.5-cyclic monophosphate levels in primary cultures of glia. *J. Cyclic Nucleod. Res.* 4, 15-26, 1978
74. Minnemann K.P., Pittmann R.N., Yeh H.H., Woodward D.J., Wolfe B.B. und Molinoff P.B.: Selective survival of β_1 -adrenergic receptors in rat cerebellum following neonatal X-irradiation. *Brain Res.* 209, 25-34, 1981
75. Moldow R.L., Kastin R.J., Hollander C.J., Coy D.H. und Sandmann C.A.: Brain β -endorphin like immunoactivity in adult rats given β -endorphin neonatally. *Brain Res.* 7, 683-686, 1981
76. Morris G. und Slotkin T.A.: β_2 -adrenergic control of ornithinedecarboxylase activity in brain regions of the developing rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 233, 141-147, 1985
77. Morrison H.J., Grzanna R., Mollive M.E. und Coyle J.T.: The distribution and orientation of noradrenergic fibers in neocortex of the rat: A immunofluorescence study. *J. Comp. Neurol.* 181, 17-40, 1978
78. Morrison J.H., Mollive M.E. und Grzanna R.: Noradrenergic innervation of cerebral cortex: Wide-spread effects of local cortical lesions. *Science* 205, 313-316, 1979
79. Nestler E.J. und Tallman J.F.: Chronic morphine treatment increases cyclic AMP-dependent protein kinase activity in the rat locus coeruleus. *Mol. Pharmacol.* 33, 127-132, 1988
80. Norton S. and Donoso A.: Forebrain damage following prenatal exposure to low dose X-radiation. *Exp. Neurol.* 87, 185-197, 1985
81. O'Callaghan J.P. und Holtzman S.G.: Prenatal administration of morphine to the rat: Tolerance to the analgesic effect of morphine in the offspring. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 197, 533-539, 1976
82. O'Callaghan J.P. und Holtzman S.G.: Prenatal administration of levorphanol or dextrorphan to the rat: analgesic effect of morphine in the offspring. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 200, 255-260, 1977
83. O'Kada S.: *Radiation Biochemistry. Vol 1*, 203-251, (Ed.: K.J. Altman) Academic Press New York 1970
84. Paul L., Diaz J. und Bailey B.: Behavioral effects of chronic narcotic antagonist administration to infant rats. *Neuropharmacol.* 17, 655-657, 1978

85. Paxinas G. und Watson C.: The rat brain in stereotaxis coordinates, in (edt) Academic Press, New York, 1986
86. Peters A. und Feldman M.: The cortical plate and molecular layer of the late rat fetus. *Z. Anat. Entwickl. Gesch.* 141, 3-37, 1973
87. Petrillo P., Tavani A., Verotta D., Robson L.E. und Kosterlitz H.W.: Differential postnatal development of μ - δ - and k-opioid binding sites in rat brain. *Dev. Brain Res.* 428, 53-58, 1982
88. Pittman R.N., Minneman K.P. und Molinoff P.B.: Ontogenie of β_1 - and β_2 -adrenergic receptors in rat cerebellum and cerebral cortex. *Brain Res.* 188, 357-368, 1980
89. Raedler E. und Raedler A.: Autoradiographic study of early neurogenesis in rat neocortex. *Anat. Embryol.* 154, 267-284, 1978
90. Raedler E., Raedler A. und Feldhaus S.: Dynamical aspects of neocortical histogenesis in the rat. *Anat. Embryol.* 185, 253-269, 1980
91. Rakic P.: Neuron-glia relationship during cell migration in developing cerebellar cortex: A golgi and electron microscopic study in Macaca Rhesus. *J. Comp. Neur.* 141, 283-312, 1971
92. Reggiani A., Carenzi A. und Della Bella D.: Influence of opioids on β -receptor downregulation: Studies in cultured C6-glioma cells. *Brain Res.* 423, 254-260, 1987
93. Revesz E. und Zypen van der E.: Radiation induced developmental abnormalities of the brain ventricles in the golden hamster. *Acta Anat.* 125, 121-125, 1986
94. Riggs H.E., McGrath J. und Schwarz H.P.: Malformation of the adult brain (albino rat) resulting from prenatal radiation. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 15, 432-447, 1956
95. Rougon G., Noble M. und Mudge A.W.: Neuropeptides modulate the β -adrenergic response of purified astrocytes in vitro. *Nature* 305, 715-717, 1983
96. Sandman C.A., McGifern R.F., Berka C., Walker J.M., Coy D. und Kaskin A.J.: Neonatal administration of β -endorphine produces "chronic" insensitivity to thermal stimuli. *Life Sci.* 25, 1755-1760, 1979
97. Sara V., Lazarus L., Stuart M. und King T.: Fetal brain growth: Selective action by growth hormone. *Science* 186, 446-447, 1974

98. Schmahl W. und Kollmer W.E.: Radiation-induced meningeal and pituitary tumors in the rat after prenatal application of strontium 90. *J.Cancer Res. Clin. Oncol.* 100, 13-18, 1981
99. Schmahl W.: Kinetics of telencephalic neural cell proliferation during the fetal regeneration period following a single X-irradiation at the late organogenesis stage. *Radiat. Environ. Biophys.* 21, 19-31, 1982
100. Schmahl W., Plendl J. und Reinöhl-Kompa S.: Effects of naltrexone in postnatal rats on the recovery of disturbed brain and lymphatic tissues after X-irradiation or ethylnitrosourea treatment in utero. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* 55, 89-99, 1987
101. Schmidt S.L. und Lent R.: Effects of prenatal irradiation on the development of cerebral cortex and corpus callosum of the mouse. *J. Comp. Neurol.* 264, 193-204, 1987
102. Shain W., Madelian V., Martin D.L., Kimelberg H.L., Perrone M. und Lepore R.: Activation of β -adrenergic receptors stimulates release of an inhibitory transmitter from astrocytes. *J.Neurochem.*, 1298-1305, 1986
103. Sharma T.R., Chan W.C. und Gintzler A.R.: Effect of chronic naltrexone administration and its withdrawal on the regional activity of neurons that contain norepinephrine, dopamine and serotonin. *Brain Res.* 442, 379-386, 1988
104. Shoukimas G.M. und Hinds J.W.: The development of the cerebral cortex in the embryonic mouse: An electron microscopic serial section analysis. *J.Comp. Neurol.* 179, 795-830, 1978
105. Sinclair W.K. und Morton R.A.: X-ray sensitivity during the cell generation cycle of cultured Chinese hamster cells. *Radiat.Res.* 29, 450-474, 1966
106. Slotkin T.A., Whitmore W.L., Orband-Miller L., Queen K.L. und Haim K.: β -adrenergic control of macromolecule synthesis in neonatal rat heart, kidney and lung: Relationship to sympathetic neuronal development. *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 243, 101-109, 1987
107. Slotkin T.A., Levant B., Orband-Miller L. Stasheff S.: Do sympathetic neurons coordinate cellular development in the heart and kidney? Effects of neonatal central and peripheral catecholaminergic lesions on cardiac and renal nucleic acids and proteins. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 244, 166-172, 1988

108. Smart I.: The subependymal layer of the mouse brain and its cell production as shown by autoradiographie after 3-H-thymidin injection. *J. Comp. Neur.* 116, 325-347, 1961
109. Soffer D., Pittaluga S., Feiner M. and Beller A.J.: Intercranial meningiomas following low-dose irradiation to the head. *J. Neurosurg.* 59, 1048-1053, 1983
110. Sonderegger T.B., Bremley B. und Zimmermann E.: Effect of morphine pellet implantation in neonatal rats *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 154, 435-438, 1977
111. Spain J., Roth B. und Coscia C.: Differential ontogeny of multiple opioid receptors (μ , δ , κ). *J. Neurosci.* 5, 584-588, 1985
112. Sturrock R.R.: Histogenesis of anterior limb of the anterior commissure of the mouse brain II: A quantitative study of pre- and postnatal mitosis. *J. Anat.* 117, 27-35, 1974
113. Sumi N., Stavrou D., Froberg H. Jochmann G.: The incidence of spontaneous tumors of the central nervous system of Wistar rats. *Arch. Toxicol.* 35, 1-13, 1976
114. Takeuchi I.K. und Takeuchi Y.K.: Congenital hydrocephalus following X-irradiation of pregnant rats on an early gestational day. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* 8, 143-150, 1986
115. Tavani A., Robson L. und Kosterlitz H.W.: Differential postnatal development of μ -, δ - and κ -opioid binding sites in mouse brain. *Dev. Brain Res.* 23, 306-309, 1985
116. Tempel A., Zukin S. und Gardner E.L.: Supersensitivity of brain opiate receptor subtypes after chronic naltrexone treatment. *Life Sci.* 31, 1401-1404, 1982
117. Tempel A., Gardener E.L. und Zukin S.: Neurochemical and functional correlates of naltrexone induced opiate receptor up-regulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 232, Nr 2, 439-445, 1984
118. Tempel A., Habas J., Paredes W. und Barr G.A.: Morphine-induced downregulation of μ -opioid receptors in neonatal rat brain. *Dev. Brain Res.* 41, 129-133, 1988
119. Terasima T. und Tolmach L.J.: Variations in several responses of HeLa cells to X-irradiation during the division cycle. *Biophys. J.* 3, 11-33, 1963
120. Tsang D. und Ng S.C.: Effect of antenatal exposure to opiates in the development of opiate receptors in rat brain. *Brain Res.* 188, 199-206, 1980

121. Tsubouchi S. und Matsuzawa T.: Rapid radiation cell death and cell proliferation in intestinal epithelium after 1000 rad irradiation. *Radiat. Res.* 57, 451-458, 1974
122. Unnerstall J.R., Molliver M.E., Kuhar M.J. und Palacios M.J.: Ontogeny of opiate binding sites in the hippocampus, olfactory bulb and other regions of the rat forebrain. *Dev. Brain Res.* 7, 157-163, 1983
123. Van Calker D., Müller M. und Hamprecht B.: Adrenergic α - and β -receptors expressed by the same cell type in primary culture of perinatal mouse brain. *J. Neurochem.* 30, 713-718, 1978
124. Verhees C.V.: Effects of prenatal naloxone exposure in postnatal behavioral development of rats. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* 3, 295-301, 1981
125. Vertes Z., Meleg G., Vertes M. und Kovacs S.: Effect of naloxone and D-Met-2Pro5-enkephalinamide treatment on the DNA synthesis in the developing rat brain. *Life Sci.* 31, 119-126, 1982
126. Walters R.A. und Tobey R.A.: Radiosensitivity of mammalian cells IV. Effects of X-radiation on the DNA-synthetic period in synchronized cells. *Biophys. J.* 10, 556-562, 1970
127. Watanabe J. und Horikawa M.: Analysis of differential sensitivities of synchronized HeLa S3 cells to radiations and chemical carcinogens in the cell cycle. V. Radiation and chemical carcinogen induced mutagenesis. *Mutat. Res.* 71, 219-231, 1980
128. Wegner G. und Haas R.: Die DNS-Neubildung und Entstehung von Mißbildungen nach Röntgenganzbestrahlung früher Embryonalanlagen der Ratte. *Verhandl. Deutsch. Gesell. Path.* 51, 282-287, 1967
129. Wegner G. und Mecking H.: Autoradiographische Untersuchungen der DNS-Neubildung in Gehirnanlagen nach einmaliger Röntgenbestrahlung später Embryonal- und Fetalstadien der Ratte. *Z. Ges. Exp. Med.* 149, 2-12, 1969
130. Wiggenhauser A. und Schmahl W.: Postnatal development and neoplastic disease pattern in NMRI mice after combined treatment with ethylnitrosourea and X-irradiation on different days of the fetal period. *Int. J. Radiat. Biol.* 51, 1021-1029, 1987
131. Wilson J.G., Brent R.L. Jordan H.C.: Neoplasia induced in rat embryos by Röntgen irradiation. *Cancer Res.* 12, 222-228, 1952

132. Yorburn B.C., Goodman R.R., Cohen A.H., Pasternak G.W. und Inturisi C.E.: Increased analgesic potency of morphine and increased opioid binding sites in the rat following chronic Naltrexone treatment. *Life Sci.* 36, 2325-2332, 1985
133. Zadina J.E., Kastin A.J., Coy D.H. und Adinoff B.A.: Developmental behavioral, and opiate receptor changes after prenatal or postnatal β -endorphin, GRF, or Tyr-MIF-1. *Psychoneuroendocrinol.* 10, 367-386, 1985
134. Zagon I.S. und McLaughlin P.J.: Duration of opiate receptor blockade determines tumorigenic response in mice with neuroblastoma: A role for endogenous opioid systems in cancer. *Life Sci.* 35, 409-416, 1984
135. Zagon I.S., McLaughlin P.J.: Modulation of murine neuroblastoma in nude mice by opioid antagonists. *J. Natl. Cancer Inst.* 78, 141-147, 1987

DANKSAGUNG

Herrn Dr.Dr.habil. Wolfgang Schmahl danke ich sehr herzlich für die Bereitstellung des Themas, für die stets gewährte, einsatzfreudige Unterstützung sowie für seine vielen hilfreichen Hinweise und Anregungen bei der Durchführung meiner Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau E. Senft, Frau I. Di Grazia und Frau I. Steege für die Einweisung in histologische Arbeitstechniken und ihre Hilfe bei allen auftretenden Problemen bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Ruth Funk für die liebevolle Zusammenarbeit.

Bei Frau Alexandra Rieg bedanke ich mich herzlich für die kritische Durchsicht meines Manuskriptes und bei Herrn Peter Funk für die Unterstützung bei der Arbeit am Computer.

LEBENS LAUF

Ursula Miaskowski
Matthias-Mayer Str. 6
8000 München 70

geboren am	26.5.1961
in	Salzgitter-Lebenstedt
Eltern	Dr.rer.nat. Manfred Miaskowski und Inge Ebersberg, geb. Rochell
Familienstand	ledig
Konfession	römisch-katholisch

Schul Ausbildung

1967-1971	Grund- und Hauptschule Lengede,
1971-1981	Gymnasium Groß Ilsede
30.6.1981	Abitur

Studium

1981-1983	Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Hochschule Hannover
ab 1983	Fortsetzung an der Ludwig-Maximilians- Universität, München
1.12.1987	Approbation als Tierärztin
ab Okt.1987	Dissertation am Institut für Pathologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung Neuherberg bei München

